

DER EDELKREBS (ASTACUS ASTACUS L.)
ALS VEKTOR DES VIRUS
DER INFEKTIÖSEN PANKREASNEKROSE (IPNV)

MARIA ELISABETH HALDER

Disbui. München

1987



Aus dem Institut für
Zoologie und Hydrobiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstände: Prof. Dr. M. Ruf, Prof. Dr. Dr. habil. W. Ahne
Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. Dr. habil. W. Ahne

DER EDELKREBS (ASTACUS ASTACUS L.)

ALS VEKTOR DES VIRUS

DER INFEKTIOSEN PANKREASNEKROSE (IPNV)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Maria Elisabeth Halder

aus
Saulgau

München 1987

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. Dr.habil. W. Ahne

Korreferent: Prof. Dr. D.O. Schmid

Tag der Promotion: 24. Juli 1987

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. SCHRIFTTUM	3
1. Der Edelkrebs (<i>Astacus astacus</i> L.)	3
1.1. Taxonomie des Edelkrebses	3
1.2. Vorkommen der Edelkrebsse	4
1.3. Lebensweise der Edelkrebsse	5
1.4. Anatomie der Edelkrebsse	6
1.5. Die Hämolymphe und die Hämozyten der Edelkrebsse	10
1.6. Fortpflanzung, Wachstum und Häutung der Edelkrebsse	15
1.7. Krankheiten und Parasiten der Edelkrebsse	18
1.7.1. Die "Krebspest" der Edelkrebsse	18
1.7.2. Die "Porzellankrankheit" der Edelkrebsse	19
1.7.3. Die "Brandfleckenkrankheit" der Edelkrebsse	20
1.7.4. Die Parasiten der Edelkrebsse	21
1.8. Virale Infektionen bei Crustaceen	22
2. Die infektiöse Pankreasnekrose (IPN) der Forellen	30
2.1. Ätiologie der IPN	30
2.2. Pathologie der IPN	32
2.3. Epizootiologie der IPN	33
2.3.1. Allgemeines zur Epizootiologie	33

2.3.2.	Ausscheidung des IPNV	33
2.3.3.	Eintrittspforten des IPNV	34
2.3.4.	Übertragung des IPNV	34
2.3.5.	Infektketten	39
2.3.6.	Faktoren, die das IPNV-bedingte Seuchengeschehen beeinflussen	40
2.4.	Immunologie	42
2.5.	Diagnose der IPN	43
2.6.	Bekämpfung der IPN	44
III.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	46
1.	Material und Methoden	46
1.1.	Edelkrebse, Forelleneier und Forellen- brütlinge	46
1.2.	Zellkulturen	46
1.3.	Virusmaterial	47
1.4.	Virusreisolierung	48
1.4.1.	Allgemeines	48
1.4.2.	Hämolymph der Edelkrebse	48
1.4.3.	Organe und Gewebe der Edelkrebse	49
1.4.4.	Forelleneier und Forellenbrut	50
1.5.	Virusidentifizierung	51
1.6.	Elektronenmikroskopie	52
1.7.	Infektion der Edelkrebse mit dem IPNV	53
1.7.1.	Intraperitoneale (i.p.) Infektion der Edelkrebse mit dem IPNV	53
1.7.2.	Infektion der Edelkrebse mit IPNV- haltigem Wasser	53

1.7.3.	Infektion der Edelkrebse mit IPNV-haltigem Futter (Forellenbrut)	54
1.7.4.	Infektion der Edelkrebse über das Hälterungswasser IPNV-infizierter Forellen	55
1.8.	Infektion der Forelleneier und Forellenbrütlinge über das Hälterungswasser IPNV-infizierter (i.p.) Edelkrebse	55
2.	Ergebnisse	57
2.1.	Empfänglichkeit der Edelkrebse für das IPNV	57
2.1.1.	Infektion der Edelkrebse mit IPNV-haltigem Wasser	57
2.1.2.	Intraperitoneale Infektion der Edelkrebse mit IPNV	60
2.1.3.	Infektion der Edelkrebse mit IPNV-haltigem Futter	62
2.1.4.	Infektion der Edelkrebse über das Hälterungswasser IPNV-infizierter Forellenbrütlinge	63
2.2.	Persistenz des IPNV in der Hämolymphe und in den Organen der Edelkrebse	64
2.2.1.	Persistenz der IPN-Viren im Organismus der mit IPNV-haltigem Wasser infizierten Edelkrebse	64
2.2.2.	Persistenz der IPN-Viren im Organismus der mit IPNV intraperitoneal infizierten Edelkrebse	68
2.3.	Ausscheidung des IPN-Virus ins Hälterungswasser durch IPNV-infizierte Edelkrebse	71
2.3.1.	Ausscheidung des IPN-Virus ins Hälterungswasser nach der Infektion der Edelkrebse mit IPNV-haltigem Wasser	71
2.3.2.	Ausscheidung des IPN-Virus ins Hälterungswasser nach der intraperitonealen Infektion der Edelkrebse mit IPNV	73

2.4.	Infektion der Forelleneier und Forellenbrütlinge mit Hälterungswasser der IPNV-infizierten (i.p.) Edelkrebse	74
2.4.1.	IPNV-Ausscheidung der Edelkrebse	74
2.4.2.	Infektion der Forelleneier mit Hälterungswasser IPNV-infizierter (i.p.) Edelkrebse	76
2.4.3.	Infektion der Forellenbrut mit Hälterungswasser IPNV-infizierter (i.p.) Edelkrebse	77
2.5.	Virusidentifizierung	80
2.6.	Elektronenmikroskopie	81
IV.	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	85
V.	ZUSAMMENFASSUNG	98
VI.	SUMMARY	100
VII.	LITERATURVERZEICHNIS	102

I. EINLEITUNG

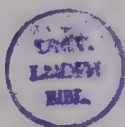
Die infektiöse Pankreasnekrose (IPN), die in der Bundesrepublik Deutschland zu den meldepflichtigen Tierkrankheiten (BGBL. I S. 1095; 13.07.1983) zählt, ist eine weltweit (Europa, Amerika, Asien) verbreitete Viruserkrankung der Forellen (Hill, 1982).

Als sog. Fischseuche unterliegt die IPN auch der Verordnung zum Schutz gegen die ständige Gefährdung der Süßwasserfische durch Fischseuchen (Fischseuchen-Schutzverordnung, 1982).

Das weite Wirtsspektrum des IPN-Virus (IPNV) umfaßt neben Rundmäulern (1 Art), Knochenfischen (37 Arten), Muscheln (6 Arten) auch Krebse (3 Arten) (Ahne, 1985).

Bisher ließ sich das IPN-Virus bei der Strandkrabbe (Carcinus maenas) (Hill, 1982), bei dem Wasserfloh (Daphnia pulex) (Ahne, 1984) und bei einer Garnelenart (Penaeus japonicus) (Bovo et.al., 1984) ermitteln.

In den letzten Jahren sind Bemühungen im Gange, den stark dezimierten und in seiner Existenz bedrohten Edelkrebs (Astacus astacus L.) in geeignete Wildgewässer wieder einzusetzen. Auch die Teichwirtschaft zeigt zunehmendes Interesse an diesem Tier, da die Züchtung des geschätzten Speisekrebses einen lukrativen Nebenerwerb darstellen kann.



Hinsichtlich der Untersuchungen von HILL (1982), AHNE (1984) und BOVO et.al. (1984) stellt sich die Frage, ob auch der Edelkrebs für das IPNV empfänglich ist und somit als Virusträger in Frage kommt.

Die Klärung dieser Frage ist aus seuchenhygienischen Gründen für die gesamte Fischzucht und für den Gewässerschutz bedeutungsvoll.

In der vorliegenden Arbeit soll daher untersucht werden:

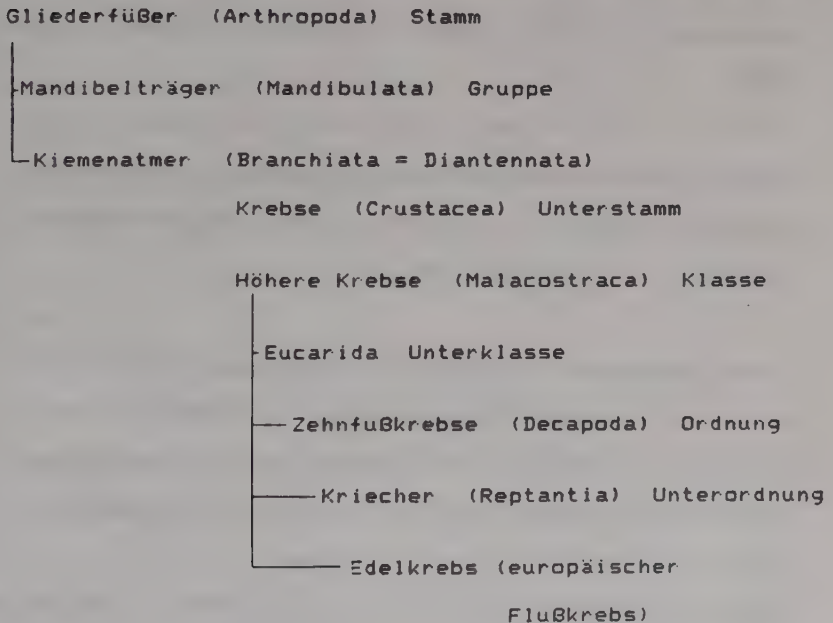
1. Ist der Edelkrebs für das IPNV empfänglich ?
2. Persistiert das IPN-Virus im Edelkrebs ?
3. Wird das IPNV vom infizierten Edelkrebs ausgeschieden ?
4. Können Forelleneier und Forellenbrut mit dem vom Edelkrebs ausgeschiedenen IPN-Virus infiziert werden ?

II. SCHRIFTTUM

1. Der Edelkrebs (*Astacus astacus* Lin.)

1.1. Taxonomie des Edelkrebses

In die zoologische Systematik (Ahne, 1986) ist der Edelkrebs wie folgt einzuordnen:



1.2. Vorkommen der Edelkrebse

Der in Europa heimische Edelkrebs zählt zu den bedrohten Tierarten. In der freien Natur existieren nur noch geringe Bestände (Hofmann, 1979).

Das Auftreten der Krebspest (eine durch Aphanomyces astaci verursachte Pilzerkrankung) und die seuchenartige Ausbreitung dieser Krankheit in ganz Europa führte Ende des letzten und zu Beginn dieses Jahrhunderts zu einem Massensterben der Edelkrebse in Flüssen und Seen (Hofmann, 1979).

Ursachen für die aktuelle Gefährdung der noch existierenden Edelkrebsbestände sind vor allem auch in der Gewässerverschmutzung und in der Einschränkung des natürlichen Lebensraumes zu sehen (Hofmann, 1979).

In der Bundesrepublik Deutschland hat der Edelkrebs durch den starken Bestandsrückgang seine wirtschaftliche Bedeutung verloren. Es wird aber angestrebt, den geschätzten Speisekrebs in extensiven Teichwirtschaften wieder zu züchten.

Daneben ist man bemüht durch Besatzmaßnahmen in geeigneten Wildgewässern, neue Bestände aufzubauen.

In Bayern existieren zwei Zuchtbetriebe für Edelkrebse, die vor allem für den Besatz produzieren.

Auch andere europäische Länder wie Finnland, Norwegen und Schweden sind bemüht den Ausbau von Edelkrebszuchtanlagen zu aktivieren.

In Schweden wurden 1982 von 10 Betrieben eine Tonne Edelkrebse produziert, in Finnland werden ca. 4 Mio. Edelkrebse pro Jahr gefangen und auf dem inländischen Markt verkauft. Norwegen, das von der Krebspest nahezu unberührt blieb, produziert pro Jahr 20 - 40 t Edelkrebse (Westman und Pursiainen, 1982).

1.3. Lebensweise der Edelkrebse

Der Edelkrebs bevorzugt saubere, langsam fließende, buschbestandene Bäche und Flüsse; er hält sich auch in Teichen, Tümpeln und Seen auf, sofern diese nicht zu viel Schlamm aufweisen.

Untertags versteckt sich der Edelkrebs unter Wurzelstöcken, Steinen oder in "Wohnhöhlen", die er in lehmige Uferböschungen gräbt. Abends und nachts geht der Edelkrebs auf Nahrungssuche. Er ernährt sich sowohl von Pflanzen als auch von im Wasser lebenden Tieren wie Würmern, Insekten und deren Larven sowie von Schnecken. Größere Tiere wie Fische, Frösche und Wasserratten fängt der Edelkrebs nur, wenn diese geschwächt oder krank sind. Aas frißt der Edelkrebs, aber nur in relativ frischem, 1 - 2 Tage altem Zustand.

Die Nahrungsaufnahme, das Wachstum und die Reproduktion der Edelkrebse hängt weitgehend von der Wassertemperatur ab, wobei 15 - 20° C als optimal anzusehen sind.

Zu den natürlichen Feinden größerer Edelkrebse zählen carnivore Fische wie Aale, Rutten, Barsche, Hechte, Aitel und Forellen. Insbesondere vor dem Aal sind frisch gehäutete Edelkrebse ("Butterkrebse") selbst in ihren Verstecken nicht sicher.

Kleinere Edelkrebse und Edelkrebsbrut dienen auch Wasservögeln als Nahrungsquelle.

1.4. Anatomie des Edelkrebses

Der Körper des Edelkrebses läßt sich in zwei Hauptabschnitte, den Cephalothorax, der durch die Verschmelzung der Kopf- und Brustsegmente entstand, und das Abdomen ("Krebsschwanz") einteilen.

Die Extremitäten sind segmental angeordnet, sie bilden am Kopf 2 Paar Antennen und 6 Paar Mundwerkzeuge. Aufgrund der Umwandlung der ersten drei Thorakopodenpaare zu Kieferfüßen verbleiben fünf Beinpaare als Laufbeine (Peraeopoden), von denen das erste Paar die gut entwickelten Scheren trägt. Das Edelkrebsweibchen besitzt am Abdomen vier Beinpaare (Pleopoden), welche die befruchteten Eier sowie die Embryonen tragen, sie dienen aber auch als Schwimmhilfe.

Das männliche Tier weist fünf abdominale Beinpaare auf, das erste Paar ist zu Kopulationsfüßchen (Gonopoden) umgewandelt. Das letzte Segment des Krebsabdomens trägt den Schwanzfächer (Telson).

Eine Chitinhülle (Exo-, Endo- und Epikutikula) umschließt den Körper des Edelkrebsses. Diese ist zum größten Teil verkalkt und hart, nur an den Gelenken und an der ventralen Seite des Abdomens befinden sich weiche, unverkalkte Bezirke.

Nach Entfernen des Rückenschildes (Carapax), der den Cephalothorax dorsal und lateral umfaßt, liegen die inneren Organe frei (Abb.1).

Im vorderen Teil des Cephalothorax liegt der Magen, der mit Chitinleisten und Filtrationseinrichtungen versehen ist. Lateral vom Magen befinden sich die paarig angeordneten Mandibelmuskeln. Seitlich von diesen sind Teile des bräunlich gefärbten Hepatopankreas (Mitteldarmdrüse) zu sehen. Das Organ erstreckt sich kaudalwärts bis zum Herzen. Das Herz befindet sich median am hinteren Rand des Cephalothorax. Es wird vom Perikardialsinus umgeben.

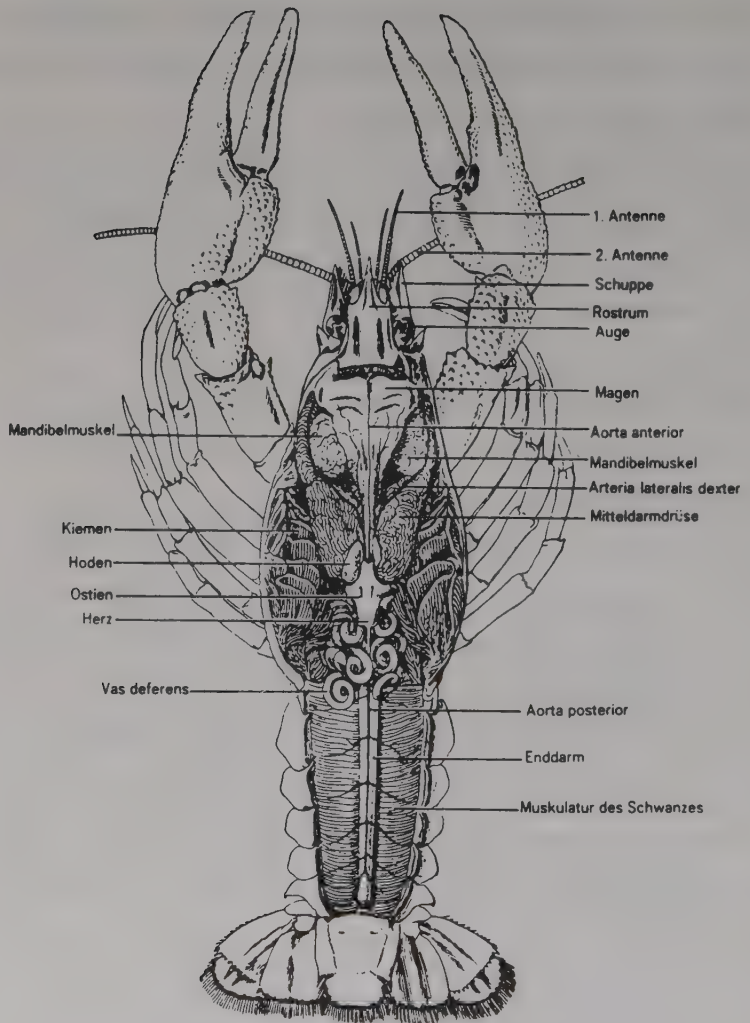


Abb. 1 Schematische Darstellung der inneren Organe eines Edelkrebsmännchens (nach Renner, 1984)

Dicht hinter dem Herzen sind die schlauchförmigen Vasa deferentia zu erkennen, die die Ausführungsgänge der paarigen Hoden beim männlichen Tier darstellen. Die Ovarien der weiblichen Edelkrebse liegen wie die Hoden dicht vor und unterhalb des Herzens.

Im Kopfbereich des Edelkrebsses ist das an der Basis der zweiten Antenne liegende paarige Exkretionsorgan, die grünliche Antennendrüse zu finden.

An den seitlichen Abschnitten des Cephalothorax liegen die Kiemen in den Kiemenhöhlen.

Das Abdomen wird von der kräftigen Schwanzmuskulatur ausgefüllt. Der röhrenförmige Darm verläuft im Cephalothorax vom Magen ausgehend ventral von Herz, Hoden bzw. Ovar und mündet die Schwanzmuskulatur durchziehend im After an der ventralen Seite des Abdomens.

1.5. Die Hämolymphe und die Hämozyten der Edelkrebse

Die Körperflüssigkeit der Krebse wird als Hämolymphe bezeichnet. Die Malacostraca besitzen ein offenes Blutgefäßsystem, es gehen jedoch vom Herzen echte Gefäße aus, die als Arterien bezeichnet werden. Sie transportieren die Hämolymphe zu den verschiedenen Geweben und Organen, wo der Stoffaustausch stattfindet. Im medianen, ventral gelegenen Sinus sammelt sich die mit Stoffwechselprodukten angereicherte und sauerstoffarme Hämolymphe, sie gelangt von hier zur Sauerstoffaufnahme in die Kiemen, über die auch Stoffwechselprodukte ausgeschieden werden.

Die zellulären Bestandteile der Hämolymphe werden als Hämozyten bezeichnet. Es lassen sich drei Zelltypen unterscheiden: die hyalinen, die semigranulären und die granulären Hämozyten (Tab. 1).

Tabelle 1 Übersicht über die beim Edelkrebs vorkom-
menden zellulären Bestandteile der Hämolymphe
(nach Stang-Voss, 1971; Bauchau, 1981)

Zelltyp	Größe der Hämozyten	Form der Hämozyten	Lage und Form des Kerns	Größe der zytoplas- matischen Granula
hyaline Hämozyten	max. 30 μm	rund bis oval	zentral, rund und groß	0.1- 0.5 μm
semi- granuläre Hämozyten	max. 30 μm	oval bis spindel- förmig	zentral oder ex- zentrisch, oval und gelappt	bis zu 2 μm
granuläre Hämozyten	max. 50 μm	oval	exzen- trisch, nieren- förmig	bis zu 3 μm

Die Hämozyten entstammen dem hämopoetischen Gewebe, dieses befindet sich bei den Reptantia lateral und dorsal des Magens (Bauchau, 1981). Sie erfüllen neben Stoffwechselfunktionen folgende Aufgaben bei der zellulären Abwehr der Crustaceen (Bauchau, 1981; Smith und Söderhäll, 1983 a, b; Bang, 1983; Söderhäll und Smith, 1986):

1. Beteiligung bei der Gerinnung der Hämolymphe
2. Wundverschluß und Wundheilung
3. Einschluß von Fremdkörpern mit Kapselbildung
4. Phagozytose (hyaline und semigranuläre Hämozyten)
5. Träger des Prophenoloxidase-Aktivierungssystems
(semigranuläre und granuläre Hämozyten)

Neuesten Untersuchungen (Söderhäll und Smith, 1986) zufolge spielt das Prophenoloxidase-Aktivierungssystem eine entscheidende Rolle bei der zellulären Abwehr der Crustaceen und beim Erkennen von Fremdstoffen. Dieses System beinhaltet eine Reihe von Enzymen und anderen Faktoren, die durch ihr Zusammenwirken die Melaninsynthese im Krebsorganismus in Gang setzen, wobei die Prophenoloxidase als Schlüsselenzym wirkt. In seiner aktiven Form (Phenoloxidase) induziert dieses Enzym die Bildung von Melanin und Chinonen aus den in der Hämolymphe vorhandenen Phenolen.

Melanin und Chinone hemmen u.a. das Wachstum von Aphanomyces astaci, dem Erreger der Krebspest (Söderhäll und Ajaxon, 1982). Die Phenoloxidase besitzt die Eigenschaft an den Oberflächen körperfremder Stoffe zu haften und fördert dadurch die Melaninbildung an diesen Stellen (Söderhäll, 1981). Hierdurch erfolgt die Melanisierung der Wunden und Fremdkörper.

Das inaktive Prophenoloxidasystem befindet sich in den Granula der semigranulären und granulären Hämocyten (Smith und Söderhäll, 1983 b; Söderhäll und Smith, 1983). Es kann durch Lipopolysaccharide (die z.B. als Zellwandbestandteile gramnegativer Bakterien vorkommen) und durch beta-1,3-Glukane (die Zellwände von Pilzen bilden) aktiviert werden. Auch niedrige Kalziumwerte der Hämolymphe ($< 5 \text{ mM}$) setzen das Prophenoloxidase-Aktivierungssystem in Gang (Unestam und Söderhäll, 1977; Söderhäll und Unestam, 1979; Söderhäll, 1981, 1983; Söderhäll und Häll, 1984) (Abb. 2).

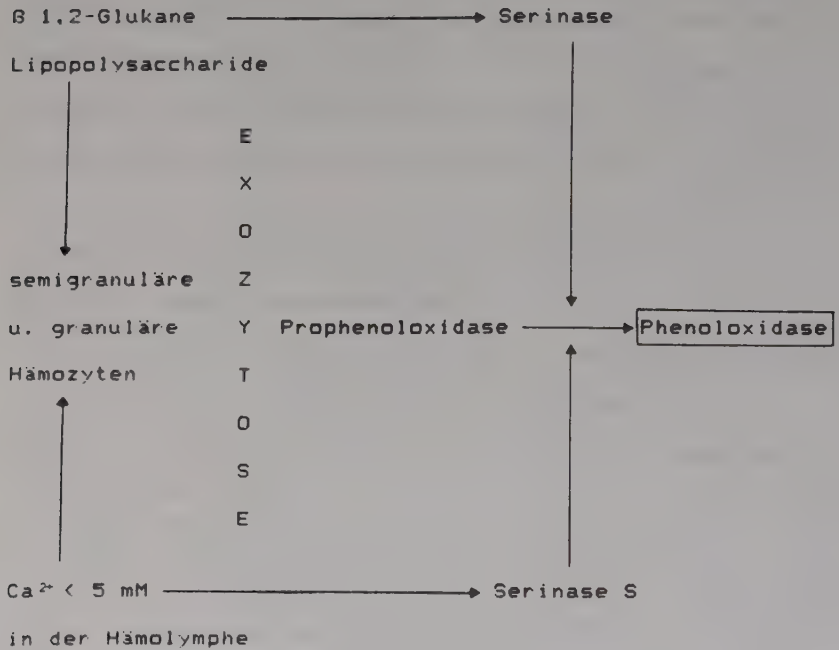


Abb. 2 Das Prophenoloxidase-Aktivierungssystem

Die Freisetzung der Prophenoloxidase und die der anderen beteiligten Enzyme aus den Granula der Hämocyten erfolgt durch Exozytose (Johansson und Söderhäll, 1985).

Beteiligt ist dieses System außerdem bei der Gerinnung der Hämolymphe. Es besitzt opsonine, antimikrobielle und lytische Eigenschaften (Smith und Söderhäll, 1983 a, b).

1.6. Fortpflanzung, Wachstum und Häutung der Edelkrebse

Die Edelkrebse erreichen die Geschlechtsreife im Alter von drei Jahren. Sie sind getrenntgeschlechtliche Tiere.

Das Fortpflanzungsgeschehen beginnt im Herbst mit der Reifung der Eier im Ovar des weiblichen Tieres sowie der Ausbildung der Spermatophoren des männlichen Tieres.

Der Begattung gehen Rankämpfe der Edelkrebsmännchen voraus. Trifft der männliche Edelkrebs auf ein begattungsbereites Weibchen, versucht er es auf den Rücken zu drehen, um es mit seinen Scheren festzuhalten. Gelingt ihm dies, heftet er mit Hilfe seiner Kopulationsfüßchen (Gonopoden, umgebildetes 1. Abdominalbeinpaar) die Spermatophoren zwischen den Laufbeinen und am Schwanzfächer des Weibchens an.

Nach der Paarung ziehen sich die Weibchen zur Eiablage zurück. Durch Einschlagen des Abdomens bilden sie eine Brutkammer aus. Die Eiablage beginnt mit der Absonderung eines schleimigen Sekrets, in das später die Eier gelegt werden. Dieses Sekret aktiviert auch die Spermien und fördert deren Herauslösung aus den Spermatophoren.

Nach der Befruchtung werden die Eier in der Brutkammer des Weibchens mit Hilfe des die Eier überziehenden schleimigen Sekretes an den zahlreichen Verästelungen der abdominalen Beinpaare (Pleopoden) traubenförmig fixiert. Das Sekret erhärtet und bildet schließlich eine dünne elastische Hülle um die Eier.

Je nach Größe und Alter legt das Edelkrebsweibchen zwischen 60 und 200, 2 - 3 mm große und dunkelgefärbte Eier ab. Zur Frischwasserversorgung der Eier bewegen die Weibchen ständig ihre Pleopoden ("Brutpflege").

Die Edelkrebsweibchen überwintern mit den befruchteten Eiern am Abdomen in ihren Wohnhöhlen.

Im Mai/Juni schlüpfen 9 - 11 mm große, vollausgebildete junge Edelkrebse. Bis zur ersten Häutung (nach 8 - 10 Tagen) bleiben die jungen Edelkrebse unter dem Schutz des Muttertiers, sie klammern sich an ihrem Abdomen fest. Während des ersten Lebensjahres wachsen die jungen Edelkrebse sehr schnell. Zu diesem Zweck müssen sie sich mehrfach häuten. Häutung und Wachstum sind von den Wassertemperaturen sowie dem Nahrungsangebot abhängig und werden hormonell gesteuert.

Während der Häutung bildet der Edelkrebs unter der Einwirkung des Häutungshormons Crustecdyson ein neues Exoskelett. Ungefähr zwei Drittel des alten Außenskeletts werden

enzymatisch gelöst und resorbiert, aus dem verbliebenen Rest schlüpft der Edelkrebs während des eigentlichen Häutungsvorganges vollständig heraus. Hierbei reißt als erstes die Gelenkhaut zwischen dem Cephalothorax und dem Abdomen, der Rückenschild wird vom Edelkrebs nach vorne über den Kopf gestülpt. Das Exoskelett der Beine platzt der Länge nach auf und der Edelkrebs löst den ganzen Körper einschließlich der Antennen, Augen, Kiefer, Kiemen und Beine durch ruckartige Bewegungen aus der alten Hülle (Exuvie).

Während der Häutung und einige Tage danach ist die Kutikula der Edelkrebse noch weich ("Butterkrebs"), sie sind in diesem Zustand wehrlos gegenüber ihren Feinden und Artgenossen. Die Härtung des Chitinpanzers dauert 8 - 10 Tage.

Der Edelkrebs häutet sich im 1. Lebensjahr acht-, im 2. fünf- und im 3. zwei- bis dreimal. Nach Erreichen der Geschlechtsreife häutet sich das Edelkrebsweibchen nur noch einmal pro Jahr (nach dem Brutgeschäft), das Edelkrebsmännchen jedoch zweimal. Dies erklärt den Größenunterschied zwischen Männchen und Weibchen, so erreichen die Männchen bereits mit 3 - 4 Jahren, die Weibchen jedoch erst mit 4 - 5 Jahren eine Länge von 10 - 12 cm. Mit dieser Länge und einem Gewicht von 75 - 100 g ist die vom Züchter gewünschte Marktgröße der Speisekrebse erreicht.

1.7. Krankheiten und Parasiten der Edelkrebse

1.7.1. Die "Krebspest" der Edelkrebse

Die "Krebspest" ist eine hochansteckende und für den Edelkrebs tödliche Mykose. Der Erreger, Aphanomyces astaci (Oomycetes, Saprolegniales) wurde vermutlich um 1860 aus Nordamerika mit Krebsimporten, wie dem Kamberkrebs (Orconectes limosus) nach Italien eingeschleppt und durch den regen Handel mit Speisekrebsen über ganz Europa verbreitet (Schäperclaus, 1979; Hofmann, 1979; Arrignon, 1981).

Die Krebse infizieren sich durch die Zoosporen des Pilzes. Die Zoosporen haften an den unverkalkten Bereichen der Kutikula, sie keimen aus, und die Hyphen dringen durch die Epikutikula in die Endokutikula ein, wo sie ein dichtes Mycel ausbilden (Nyhlén und Unestam, 1980).

Die mit Aphanomyces astaci infizierten Edelkrebse zeigen Verhaltensveränderungen (Verlust der Lichtscheu) und Störungen im Bewegungsablauf. Die Mortalität beträgt 100 %, bereits 6 Tage nach der Infektion verenden die ersten Tiere.

Zur Diagnose werden die unverkalkten Bezirke der Kutikula hinsichtlich der typischen Hyphen des Erregers ($\emptyset$ 6- 8 μ m, keine Septen, durchsichtiges Protoplasma, runde Hyphenspitze, Wachstum nur in der Kutikula) mikroskopisch untersucht (Schäperclaus, 1979).

Bisher gibt es keine Möglichkeit die Krankheit gezielt zu bekämpfen. Ein ständiges Erregerreservoir bilden die aus Nordamerika eingeführten Krebse wie der Signalkrebs (Pacifastacus leniusculus) und der Kamberkrebs (Orconectes limosus). Diese bis zu 60 % latent mit Aphanomyces astaci infizierten Tiere (Söderhäll, pers. Mitt.) können den Erreger auf den Edelkrebs übertragen (Vey et.al., 1983; Persson und Söderhäll, 1983).

1.7.2. Die "Porzellankrankheit" der Edelkrebse

Die "Porzellankrankheit" beruht auf einer Microsporidieninfektion, sie wird von Thelohania contejeani hervorgerufen (Unestam, 1973).

Nach ARRIGNON (1981) kann die Krankheit eine Mortalität von bis zu 30 % verursachen.

Die Infektion mit Thelohania contejeani erfolgt oral über infizierte tote oder geschwächte Krebse, die von ihresgleichen gefressen werden (Arrignon, 1981).

Der Erreger befällt die Schwanzmuskulatur, vermehrt sich in den Muskelfibrillen und zerstört diese. Auch im Herzgewebe, im Gehirn und in den Ovarien findet man den Erreger (Arrignon, 1981).

In fortgeschrittenem Krankheitsstadium erscheint die Schwanzmuskulatur der erkrankten Edelkrebse weißlich verfärbt, und die Schwanzunterseite ist stark nach außen gewölbt.

Im histologischen Präparat der Schwanzmuskulatur lassen sich die 2 x 4 um großen Sporen von Thelohania contejeani nachweisen (Schäperclaus, 1979).

Die Krankheit kann durch regelmäßige Bestandskontrolle und Ausmerzungen verdächtiger Tiere bekämpft werden (Arrignon, 1981).

1.7.3. Die "Brandfleckenkrankheit" der Edelkrebse

Die "Brandfleckenkrankheit" ist eine lokale Mykose des Fadenpilzes Ramularia astaci, der sich in Verletzungen der Kutikula ansiedelt, die während der Paarung oder bei zu dichtem Besatz in einer Edelkrebspopulation besonders häufig auftreten (Arrignon, 1981).

Die Wunden werden durch eine Abwehrreaktion melanisiert und das betroffene Tier weist deshalb rotbräunliche Flecken am Körper auf (Arrignon, 1981), daher der Name "Brandfleckenkrankheit".

1.7.4. Parasiten der Edelkrebse

Der häufig beim Edelkrebs zu findende Branchiobdella parasita ist ein 5 - 12 mm langer, schmutziggelber Annelide (Clitellata), der sich bevorzugt auf den Scheren, den Gelenkhäuten und an der ventralen Seite des Abdomens sowie auf den Kiemen ansiedelt. Ungeklärt ist, ob Branchiobdella parasita ein echter Ektoparasit oder eher ein Komensale ist (Hofmann, 1979).

Psorospermium haeckli, dessen Taxonomie noch nicht geklärt ist, ist ein ovaler, 58 x 102 µm großer Endoparasit, der in allen Geweben des Edelkrebses vor allem aber im Bindegewebe zu finden ist (Unestam, 1973).

1.8. Virale Infektionen bei Crustaceen

VAGO (1966) beschrieb als erster ein Crustaceenvirus. Er isolierte aus erkrankten Krabben (Macropipus depurator) 50 - 60 nm große, unbehüllte Viruspartikel. Der Erreger wurde später als Paralysis-Virus (P-Virus) bezeichnet und den Reoviridae zugeordnet (Johnson, 1984).

Die Klassifizierung der über 30 in den letzten 20 Jahren entdeckten Crustaceenviren, erfolgte in den meisten Fällen nach morphologischen Gesichtspunkten (Johnson, 1984).

Die meisten der in Tabelle 2 aufgelisteten Viren stehen in keinem Zusammenhang mit einer klinisch manifesten Krankheit ihrer Wirtstiere.

Tabelle 2 Überblick über die Crustaceenviren

Familie	Wirtstier	Infizierte Zellen/Gewebe	Autor
Parvoviridae			
- HPV = Hepatopancratic Pervolike Virus	<u>Penaeus orientalis</u> <u>P. semiculatus</u> <u>P. merguensis</u> <u>P. monodon</u>	Hepatopankreas	Lightner und Redman, 1985
Herpesviridae			
- Herpeslike Virus	<u>Callinectes sapidus</u>	Hamozyten	Johnson, 1976 a
- Herpeslike Virus	<u>Rhithropanopeus harrisi</u>	Gonaden	Paven und Bonami, 1979
- Herpeslike Virus	<u>Paralithodes platypus</u>	Antennendrüse	Sparks und Morado, 1986
Baculoviridae			
- BP = Baculovirus penaei	<u>Penaeus duorarum</u> <u>P. attecus</u> <u>P. setiferus</u> <u>P. vannamei</u> <u>P. stylirostris</u> <u>P. marginatus</u>	Hepatopankreas	Couch, 1974 Lightner und Redman, 1981
- HBV = Monodon Baculovirus	<u>P. monodon</u> <u>P. merguensis</u>	Hepatopankreas Mitteldarmdrüse	Brock et.al., 1986 Lightner und Redman, 1981
- BHNV = Baculovirial Midgutland Necrosisvirus	<u>P. japonicus</u>	Mitteldarmdrüse	Sano et.al., 1981
- Baculo A = Baculovirus A	<u>Callinectes sapidus</u>	Hepatopankreas	Johnson, 1976 b
- Baculo B = Baculovirus B	<u>C. sapidus</u>	Hamozyten und hämo- poetisches Gewebe	Johnson, 1983
- nicht benannt *	<u>Carcinus mediterraneus</u>	Hepatopankreas	Pappalardo und Bonami, 1979
- nicht benannt	<u>Carcinus maenas</u>	Hamozyten, Bindegewebe	Bazin et.al., 1974
- t-(Tau) Virus *	<u>Carcinus mediterraneus</u>	Hepatopankreas	Pappalardo et.al., 1986

Tab. 2 Überblick über die Crustaceenviren (Fortsetzung)

Familie	Wirtstier	Infizierte Zellen/Gewebe	Auton
Iridoviridae			
- Typ 20	<i>Simoecephalus exspinosus</i>	Fett-, Drusen- und Nervengewebe	Federici und Hazard, 1975
- II V = Isopod iridescent virus *	<i>Armandiillidium vulgare</i>	Fett- und Nervengewebe Hamozyten	Cole und Morris, 1980
- Typ 31 *	<i>Armandiillidium vulgare</i>	Haut	Federici, 1980
- Typ 32 *	<i>Porcellio dilatatus</i>	Muskulatur Fettgewebe	
- Chlorinidovirus	<i>Daphnia magna</i>	Fettgewebe	Benjamin et al., 1984
Reoviridae			
- cytoplasmatic polyhedrosis virus	<i>Simoecephalus exspinosus</i>	Fett-, Drusen- und Nervengewebe	Federici und Hazard, 1975
- Reolike virus *	<i>Portunus conformis</i>	Epidermis, Hepatopankreas	Kuris et al., 1979
- P-Virus = Paralysis Virus *	<i>Nasobolus depurator</i>	Nervengewebe	Vago, 1966
- RLV = Reolike Virus	<i>Callinectes sapidus</i>	Hamozyten, hämopoetisches Gewebe	Johnson und Bodamer, 1975
- Gill virus	<i>Carcinus mediterraneus</i>	Kiemien	Binnami, 1976
Bunyaviridae			
- IPNV = Virus der infektiösen Pankreas Nekrose *	<i>Callinectes sapidus</i> <i>Penaeus japonicus</i> <i>Polydora pulex</i>	Hepatopankreas	Hill, 1982 Rova et al., 1984 Anne, 1984
Bunyaviridae			
- CHV = Crab Hemocytopenic Virus	<i>Carcinus maenas</i>	granuläre Hamozyten	Rang, 1971
- nicht benannt	<i>Carcinus mediterraneus</i>	Y-Organ	Ronami, 1976

Tab. 2 Überblick über die Crustaceenviren (Fortsetzung)

Familie	Wirtstier	Infizierte Zellen/Gewebe	Autoren
- S-Virus = Säte Virus #	<u>Macrobrachium depurator</u>	Herz- und Bindegewebe	Bonomi und Vago, 1971
<u>Rhabdoviridae</u>			
- RVB = Rhabdoli- Virus B	<u>Callinectes sapidus</u>	Manibullardrüse	Yudin und Clark, 1978 b
- EVH = Envelop- ed Helical Virus	<u>Callinectes sapidus</u>	Hamozyten, hamopoietisches Gewebe	Johnson und Faile/, 1980
- Y-Organ Virus	<u>Carcinus maenas</u>	Y-Organ	Clasard-Bouchaud et.al., 1976
- RHA = Rhabdoli- Virus A	<u>Callinectes sapidus</u>	Manibullardrüse, alle Ge- webe außer Muskulatur und Y-Organ	Jahromi, 1977 Yudin und Clark, 1978 a Johnson, 1978
<u>Picornaviridae</u>			
- nicht benannt	<u>Portunus conformis</u> <u>Hemigrapsus oregonensis</u>	Epidermis Hepatopankreas	Kurtis et.al., 1979
- CBV = Chesapeake Bay Virus	<u>Callinectes sapidus</u>		Johnson, 1978
- F-N-Virus	<u>Macrobrachium depurator</u>	Hamozyten, Bindegewebe	Bonomi, 1976
<u>Nicht klassifizierte Viren</u>			
- IMNV = Infectious Hypodermal and Hemato- poietic Nekrosis Virus	<u>Pennaeus stylirostris</u> <u>P. vannamei</u> <u>P. monodon</u>	Hepatopankreas Hypodermis	Lichtner et.al., 1983
- nicht benannt	<u>Pennaeus aztecus</u>	Phagozyten des Herz- gewebes	Foster et.al., 1981

= isoliert

Aus tierseuchenrelevanten Gesichtspunkten ist die Isolierung des Erregers der infektiösen Pankreasnekrose der Forellen (IPNV) aus Crustaceen bedeutungsvoll.

Das Virus konnte bei Strandkrabben (Carcinus maenas), (Hill, 1982), Wasserflöhen (Daphnia pulex), (Ahne, 1984) und bei Garnelen (Penaeus japonicus), (Bovo et.al., 1984) nachgewiesen werden. Während es sich bei den Strandkrabben und den Wasserflöhen um eine klinisch inapparente Infektion handelte, waren bei den Garnelen Verluste zu verzeichnen. Die erwähnten Garnelen entstammten einer im Labor erbrüteten Zucht. Als Futter erhielten die Tiere Muscheln, Krabben und Fisch.

Im Alter von 6 Monaten starben ca. 40 % der weiblichen und 26 % der männlichen Tiere. Aus dem Hepatopankreas der toten Garnelen ließ sich mit Hilfe von Fischzellkulturen (PG-Zellen) das IPNV isolieren. Im Neutralisationstest wurde das Isolat als IPNV Subtyp Sp identifiziert (Bovo et. al., 1984).

Es ließ sich jedoch nicht klären, ob die IPNV Infektion der auslösende Faktor für die hohen Mortalitätsraten in der Garnelenzucht war. Pathologische Befunde sind hier nicht erhoben worden.

In früheren Untersuchungen (DiGirolamo et.al., 1972 a, b) sollte geklärt werden, ob Crustaceen ähnlich wie Mollusken fähig sind aus kontaminierten Gewässern Viren aufzunehmen und im Gewebe anzureichern.

Experimentell ließen sich Krabben (Pachygrapsus sp., Hemigrapsus nudus) mit dem Poliovirus Lsc-2ab übers Wasser ($1,4 \times 10^4$ PFU/ml) und mit kontaminiertem Futter (Muscheln, $2,6 \times 10^4$ PFU/g) infizieren. Die Reisolierung des Erregers aus den Organen gab Hinweise auf eine Virusaufnahme von bis zu 63 % in 48 h (Wasser) und von bis zu 94 % in 12 h (Futter) (DiGirolamo et.al., 1972 a).

Bei den Krabben, Cancer magister und Cancer antennarius konnten nach der Infektion mit dem Bakteriophagen T4 übers Wasser 17 bzw. 29 % der Infektionsdosis ($1,5 \times 10^4$ PFU/ml) in der Hämolymphe bzw. in der Muskulatur nachgewiesen werden (DiGirolamo et.al., 1972 b).

Hinsichtlich epidemiologischer Gesichtspunkte ist zu erwähnen, daß die normale Kochzeit der Krabben von 10 - 15 Minuten nicht genügte, um die von den Krabben aufgenommenen Viren vollständig zu inaktivieren, da 10 - 15 % der aufgenommenen Bakteriophagen infektiös blieben (DiGirolamo et.al., 1972 b).

Eine andere Krabbenart, Callinectes sapidus wurde mit Poliovirus 1, Simian Rotavirus SA 11 und Echovirus 1 übers Wasser (4 h bei 15°- 25° C, Titer $1 \times 10^5 - 3 \times 10^5$ PFU/ml) infiziert. Bereits 2 Minuten p.i. erwiesen sich Hämolymphe und Verdauungstrakt als viruspositiv. Nach drei Tagen konnte in der Muskulatur, nach sechs Tagen in der Hämolymphe und im Verdauungstrakt kein Virus mehr nachgewiesen werden. Nur eine sachgemäße Zubereitung der Krabben (> 12 Minuten in kochendem Wasser) garantierte die vollständige Inaktivierung der aufgenommenen Viren (Hejkal und Gerba, 1983).

Bei keiner der oben erwähnten Untersuchungen ließ sich eine Akkumulation der aufgenommenen Viren ermitteln.

Über die Abwehrmechanismen von Crustaceen gegen Viren liegen nur wenig Informationen vor.

Infektionsversuche mit in den infrabranchialen Sinus injizierten Polioviren und Bakteriophagen (T2, T3, T4, T7, Ø II) zeigten, daß die Krabbe (Callinectes sapidus) fähig ist, Polioviren sowie T2 und T4 Bakteriophagen innerhalb von drei Stunden aus der Hämolymphe zu entfernen. Die Polioviren wurden in den Kiemen, die Bakteriophagen im Hepatopankreas angereichert. Injizierte xenogene Proteine waren bereits 60 min p.i. aus der Hämolymphe eliminiert und ließen sich ebenfalls in den Kiemen nachweisen (McCumber und Clem, 1977).

Aus der Hämolymphe von Callinectes sapidus konnte ein T2 Bakteriophagen-neutralisierender Faktor isoliert werden (McCumber et.al., 1979).

An der Entfernung von xenogenen Proteinen aus der Hämolymphe sollen phagozytierende Zellen in den Kiemen beteiligt sein (Clem et.al., 1984).

Nach JOHNSON (1980) sind diese Phagozyten, deren Ursprung unklar ist, auch im Bindegewebe, in den Organen und vor allem in der Umgebung von Blutgefäßen zu finden. Bei der Krabbe (Callinectes sapidus) können diese Zellen Viren ("Herpeslike Virus", "Baculovirus"; Johnson, 1980) aufnehmen.

Eine Arbeit beschreibt die Entfernung von xenogenen Proteinen aus der Hämolymphe eines Flußkrebsses, Procambarus clarkii, der in Nordamerika heimisch ist und der Gattung Cambarus angehört. Die Proteine reichert sich zum größten Teil in den Kiemen und zu einem geringen Teil in der Antennendrüse an (Sloan et.al., 1975).

2. Die infektiöse Pankreasnekrose (IPN) der Forellen

Die infektiöse Pankreasnekrose ist eine bei Forellenbrut und -setzlingen akut verlaufende virusbedingte Infektionskrankheit, die bisher nur in künstlichen Forellenzuchtssystemen beobachtet wurde und mit hohen Mortalitätsraten einhergeht (Ahne, 1985).

2.1. Ätiologie der IPN

Das 1957 erstmals isolierte Virus der infektiösen Pankreasnekrose (IPNV) (Wolf et.al., 1960) bildet zusammen mit dem Virus der infektiösen Bursitis der Hühner und dem Drosophila X-Virus die Familie der Birnaviridae (Dobos et.al., 1979).

Die IPN-Viren sind unbehüllte, ikosaederförmige, 60 -65 nm große Viruspartikel mit einem Sedimentationskoeffizienten von 435 S. Ihr Molekulargewicht beträgt 55×10^6 Dalton, die Dichte $1,33 \text{ g/cm}^3$ CsCl (Dobos et.al., 1979). Das Virus besitzt vier unterschiedliche Strukturproteine. Seine Nukleinsäure besteht aus zwei Segmenten Doppelstrang RNS (ein Segment dient als m-RNS), deren Molekulargewichte $2,2 \times 10^6$ und $2,6 \times 10^6$ Dalton betragen (Dobos et.al., 1979).

Das Virus ist glycerin-, äther- und chloroformstabil sowie säurebeständig (pH 3). Bei Hitzeeinwirkung (60° C) verliert es seine Infektiosität nach 1 Stunde (Wolf et.al., 1960; Wolf und Quimby, 1971). Die Inaktivierung des Erregers erfolgt durch eine Behandlung mit Jodophoren (100-200 ppm), 3 % igem Formalin, 2 % iger Natronlauge, UV-Strahlen (254 nm) und Gammastrahlen (> 1000 krad) (Ahne, 1982).

Die Anzucht und Vermehrung des IPNV gelingt insbesondere in von Salmoniformes abstammenden Zellkulturen (RTG-2 Zellkultur, Wolf und Quimby, 1962; PG-Zellkultur, Ahne, 1979). Das Virus vermehrt sich im Zytoplasma der Wirtszelle mit folgender Lysis.

Elektronenmikroskopisch sind in Ultradünnschnitten IPNV-infizierter RTG-2 Zellen bereits 6 h p.i. reife Viruspartikel nachzuweisen, die überall im Zytoplasma der infizierten Zellen einzeln, in Gruppen oder kristallin angeordnet zu finden sind (Moss und Gravel, 1969).

Serologisch lassen sich zwei IPNV-Serogruppen unterscheiden. 9 IPNV-Subtypen bilden die Serogruppe 1, ein Subtyp die Serogruppe 2 (Ahne, 1985)

2.2 Pathologie der IPN

IPNV bedingte Seuchenausbrüche sind vor allem bei Forellenbrut und Setzlingen in der Anfütterungsphase und bis zum Alter von 20 - 24 Wochen zu beobachten. Als besonders gefährdet gelten die Regenbogenforelle (Salmo gairdneri), der Bachsaibling (Salvelinus fontinalis), die Bachforelle (Salmo trutta), der Seesaibling (Salvelinus alpinus), der Atlantische Lachs (Salmo salar) sowie der Blaurückenlachs (Oncorhynchus nerka).

Die Verluste unter den Brutfischen können in Abhängigkeit von den Umweltfaktoren im Extremfall bis zu 100 % betragen.

Die Krankheit zeigt folgende klinische Anzeichen: Dunkelfärbung, Exophthalmus, aufgetriebener Vorderbauch ("Erbsebauch"), Haut- und Flossenhämorrhagien sowie Verhaltensänderungen der infizierten Fische. Das klinische Bild kann jedoch erheblich variieren.

Bei adulten Tieren und atypischen Wirtsfischen verläuft die Infektion in der Regel klinisch inapparent. Diese und die überlebenden Tiere eines Seuchenausbruchs werden i.d.R. zu Viruscarriern und Ausscheidern (Wolf et.al., 1963; Wolf und Quimby, 1967, 1969; Frantsi und Savan, 1971 a; Reno et.al., 1978). Sie können diesen Status lebenslang aufrechterhalten (Yamamoto, 1975 a, b; Yamamoto und Kilistoff, 1979).

2.3. Epizootiologie der IPN

2.3.1. Allgemeines zur Epizootiologie

Die Epizootiologie beschäftigt sich mit der Aufklärung der Ursachen und Verbreitung von Infektionskrankheiten bei Tieren. Sie erforscht die Möglichkeiten der Erregerausscheidung, -aufnahme und -übertragung unter Einbezug der Umwelt-, Wirts- und Erregerfaktoren (Rolle und Mayr, 1984).

2.3.2. Ausscheidung des IPNV

Das IPNV kann direkt mit den Faeces, der Samenflüssigkeit, mit den Eiern und der Ovarialflüssigkeit ausgeschieden werden (Wolf und Quimby, 1963; Ahne, 1983 b).

Auch eine mittelbare Verbreitung ist möglich, wenn der Erreger vom infizierten Tier nicht nach außen gelangt, sondern ein infizierter Fisch lebend oder als Kadaver gefressen wird (Ahne, 1983 a).

Die Chancen der Weiterverbreitung des IPNV nach der Ausscheidung sind sehr günstig, da das Virus gegenüber Umwelteinflüssen weitgehend stabil ist. Der Erreger verliert nicht seine infektiösen Eigenschaften innerhalb 230 Tagen im Trinkwasser bei 10° C und bleibt 210 Tage im Teichschlamm bei 4° C infektiös. Selbst im eingetrocknetem Zustand erweist sich das Virus nach vier Wochen noch als infektiös (Ahne, 1982).

2.3.3. Eintrittspforten des IPNV

Die wichtigsten Eintrittspforten für Viren sind beim Fisch die Haut, das Seitenlinienorgan, das Kiemengewebe und der Verdauungstrakt.

2.3.4. Übertragung des IPNV

Unterschieden werden monophage und polyphage Erreger. Monophage Erreger infizieren nur Wirte der gleichen Spezies, während polyphage Erreger ein sehr breites Wirtsspektrum besitzen (Rolle und Mayr, 1984).

Das Wirtsspektrum des IPNV ist sehr weit gefächert, es umfaßt Rundmäuler (1 Art), Knochenfische (37 Arten), Muscheln (6 Arten), Schnecken (2 Arten) und Krebse (3 Arten) (Tab. 3; Ahne, 1985).

Tabelle 3 IPNV-Wirtsspektrum
(Ahne, 1985)

Klasse Rundmäuler (Cyclostomata)

FlußNeunauge (Lampetra fluviatilis)

Klasse Knochenfische (Teleosteer)

Ordnung Lachsfische (Salmoniformes)

Lachsforelle	(<u>Salmo trutta trutta</u>)
Bachforelle	(<u>Salmo trutta fario</u>)
Regenbogenforelle	(<u>Salmo gairdneri</u>)
Atlantischer Lachs	(<u>Salmo salar</u>)
Blaurückenlachs	(<u>Oncorhynchus nerka</u>)
Keta-Lachs	(<u>Oncorhynchus keta</u>)
Kisutch-Lachs	(<u>Oncorhynchus kisutch</u>)
Wandersaibling	(<u>Salvelinus alpinus</u>)
Bachsaibling	(<u>Salvelinus fontinalis</u>)
Huchen	(<u>Hucho hucho</u>)
Äsche	(<u>Thymallus thymallus</u>)
Hecht	(<u>Esox lucius</u>)

Ordnung Aalartige (Anguilliformes)

Europäischer Aal	(<u>Anguilla anguilla</u>)
Japanischer Aal	(<u>Anguilla japonicus</u>)

Ordnung Heringsfische (Clupeiformes)

Heringe	(<u>Brevoortia tyrannus</u>)
---------	--------------------------------

Ordnung Karpfenfische (Cypriniformes)

Zebrabärbling	(<u>Brachydanio rerio</u>)
Plötze	(<u>Rutilus rutilus</u>)
Rotfeder	(<u>Scardinius erythrophthalmus</u>)
Elritze	(<u>Phoxinus phoxinus</u>)
Brachsen	(<u>Abramis brama</u>)
Güster	(<u>Blicca bjoerkna</u>)
Nase	(<u>Chondrostoma nasus</u>)
Gründling	(<u>Gobio gobio</u>)
Barbe	(<u>Barbus barbus</u>)
Schwanefeldbarbe	(<u>Barbodes schwanefeldi</u>)
Karpfen	(<u>Cyprinus carpio</u>)

Fortsetzung Tabelle 3

Goldfisch	(<u>Carrassius auratus</u>)
Sauger	(<u>Catostomus commersoni</u>)
Schlammpeitzger	(<u>Misgurnus anguillicaulatus</u>)
Schwertträger	(<u>Xiphophorus xiphidium</u>)

Ordnung Barschartige (Perciformes)

Sägebarsch	(<u>Dicentrarchus labra</u>)
Flußbarsch	(<u>Perca fluviatilis</u>)
Mocambique-Buntbarsch	(<u>Tilapia mossambica</u>)
Pompadourfisch	(<u>Symphysodon discus</u>)

Ordnung Plattfische (Pleuronectiformes)

Steinbutt	(<u>Scophthalmus maximus</u>)
Flunder	(<u>Paralichthys lethostigma</u>)
Seezunge	(<u>Solea solea</u>)

Klasse Muscheln (Bivalvia)

Europäische Auster	(<u>Ostres edulis</u>)
Riesenauster	(<u>Crassostrea gigas</u>)
Amerikanische Auster	(<u>Crassostrea virginica</u>)
Platte Tellmuschel	(<u>Tellina tenuis</u>)
Venusmuschel	(<u>Mercenaria mercenaria</u>)
Gemeine Miesmuschel	(<u>Mytilis edulis</u>)

Klasse Schnecken (Gastropoda)

Gemeine Napfschnecke	(<u>Patella vulgata</u>)
Gemeine Strandschnecke	(<u>Littorina littorea</u>)

Klasse Krebstiere (Crustacea)

Strandkrabbe	(<u>Carcinus maenas</u>)
Garnele	(<u>Penaeus japonicus</u>)
Wasserfloh	(<u>Daphnia pulex</u>)

Grundsätzlich kann die Erregerübertragung auf direktem und indirektem Weg erfolgen.

Die direkte Übertragung erfolgt horizontal oder vertikal. IPNV kann horizontal durch Kontakt und vertikal über das Sperma und die Eier übertragen werden. So erwies sich das Sperma IPNV-infizierter Forellen als virushaltig (3×10^1 PFU/ml), (Ahne, 1983 b). Eine Virustransmission mit Eiern wurde schon seit langem beobachtet (Wolf et.al., 1963; Bullock, 1976), jedoch konnte bisher noch nicht eindeutig geklärt werden, ob das Virus auch ins Ei gelangt. Es wurde gezeigt, daß das Virus an der Eioberfläche haftet, und die Eihüllen bis zu drei Wochen nach dem Schlupf infektiös bleiben und deshalb als Ansteckungsquelle dienen können (Ahne und Negele, 1985).

Im aquatischen Lebensraum ist die indirekte Übertragung von Krankheiten durch belebte und unbelebte Vektoren von großer Bedeutung.

Mit den Exkreten und Sexualprodukten wird das IPNV von akut erkrankten bzw. klinisch inapparent infizierten Fischen ins Wasser ausgeschieden. Im Kot konnten länger als zwei Wochen p.i. Virustiter zwischen 1×10^1 und 8×10^3 PFU/g nachgewiesen werden (Ahne, 1983 a). Neben Fischen können weitere aquatische Organismen wie Zooplankton als belebte IPNV-Vektoren dienen (Ahne, 1983 a).

Inwieweit fischfressende warmblütige Tiere als IPNV-Vektoren fungieren, ist nicht mit Sicherheit geklärt. Aus dem Kot experimentell infizierter Tiere (Vögel, Nerze) ließ sich das IPNV isolieren (Sonstegard und McDermott, 1972). Es gab jedoch keine Anzeichen für eine Vermehrung der IPNViren in diesen Tieren, die somit als mögliche mechanische Vektoren anzusehen sind. Bei Mäusen führte eine intracraniale Inokulation mit IPNV zu Pankreasläsionen (Angiolelli und Rio, 1971).

Ein ausgezeichnete unbelebter Vektor für Fischviren ist das Wasser. Im Hälterungswasser infizierter Bestände konnten IPNV-Titer von bis zu 1×10^4 PFU/ml ermittelt werden (Ahne, 1983 a). Selbst aus dem Bodenseewasser ließ sich der Erreger isolieren (Ahne, 1980). Im Flußwasser blieben die IPNV-Viren länger als 21 Tage infektiös (Ahne, 1980).

Daneben können auch tote Fische und Fischereigeräte als unbelebte Vektoren für IPNV dienen (Ahne, 1983 a).

2.3.5. Infektketten

Im Verlauf von Infektionskrankheiten können sich Infektketten ausbilden, die durch die Erregerübertragung von Individuum zu Individuum entstehen, sei es auf direktem oder indirektem Weg, durch belebte bzw. unbelebte Vektoren.

Raubfische wie der Hecht tragen zur Ausbildung homonomer und heteronomer Infektketten bei. Experimentell ließen sich Hechte über virushaltiges Futter (Forellen- und Hechtbrut) infizieren (Ahne, 1983 a).

Das breite Wirtsspektrum von IPNV bildet ein großes Erregerreservoir und stellt eine ständige Quelle für Infektketten dar.

2.3.6. Faktoren, die ein IPNV-bedingtes Seuchengeschehen beeinflussen

Wirts-, Virus- und Umweltfaktoren können das Seuchengeschehen maßgeblich beeinflussen.

a) Wirtsfaktoren: Bis zum Alter von 20 - 24 Wochen sind Regenbogenforellen, Bachforellen und Bachsaiblinge besonders IPNV-gefährdet. Mit zunehmendem Alter bildet sich jedoch eine Resistenz gegenüber der Krankheit bei den Salmoniden aus (Frantsi und Savan, 1971 b; Dorson und Torchy, 1981). Die Infektion verläuft dann klinisch inapparent und die Tiere werden zu IPNV-Carriern.

b) Umweltfaktoren: Streßfaktoren wie die Besatzdichte, der Sauerstoffgehalt des Wassers und die Wassertemperaturen können das IPN-Seuchengeschehen erheblich beeinflussen. Vor allem der Wassertemperatur, die die Körpertemperatur der Fische und somit deren Immunantwort (s. 2.4.) beeinflußt, kommt hierin eine große Bedeutung zu (Ellis, 1981). Bei niedrigen Wassertemperaturen wurde zudem eine verminderte Virusvermehrung im Fischorganismus beobachtet (Frantsi und Savan, 1971 b; Dorson und Torchy, 1981). Die Autoren beobachteten bei Infektionsversuchen mit Regenbogen- und Bachforellen die höchsten Mortalitätsraten bei 10° C, am niedrigsten waren die Sterbequoten der Forellen bei Wassertemperaturen unter 6° C.

c) Virusfaktoren: Die Erregervirulenz ist für einen Seuchenausbruch mitentscheidend. In standardisierten Virulenzuntersuchungen mit 8 - 10 Wochen alten Regenbogenforellen ließ sich für den IPNV-Subtyp Sp eine höhere Mortalität (43 - 56 %) ermitteln als für den IPNV-Subtyp Ab (15 %). Bis auf ein Isolat vom Karpfen (60 %ige Mortalität) erwiesen sich die Isolate von Nichtsalmoniden als nur schwach pathogen (6 - 10 %ige Mortalität) für die Forellen (Hill und Dixon, 1977). Von den aus Muscheln isolierten IPN-Viren waren 8 Isolate für Regenforellenbrut pathogen (Hill, 1982).

Unter natürlichen Bedingungen besitzt der IPNV-Subtyp Sp eine höhere Virulenz als der IPNV-Subtyp Ab (Jørgensen, 1974).

Jedoch kann die Virulenz durch Zellkulturpassagen (RTG-2 Zellen; Wolf und Quimby, 1962) abgeschwächt werden (Dorson et.al., 1975).

2.4. Immunologie

Forellen bilden als Reaktion auf eine IPNV-Infektion Antikörper vom tetrameren IgM-Typ (Jørgensen, 1973). Bei einer Wassertemperatur von 10° C lassen sich die IPNV-spezifischen Antikörper 30 Tage p.i. erstmals nachweisen (Jørgensen, 1973). Sie persistieren 15 Monate und länger im Fisch (Ahne und Thomsen, 1986; Dorson, 1984).

Die IPNV-Immunität läßt sich passiv übertragen (Agniel, 1975). Eine Existenz maternaler IPNV-Antikörper konnte aber bisher bei Forellen noch nicht nachgewiesen werden. Die Immunität gegenüber dem IPNV-Subtyp Ab schützt nicht vor einer Infektion mit dem IPNV-Subtyp Sp (de Kinkelin et.al., 1984).

Im Serum nicht infizierter Forellen ließen sich IPNV-neutralisierende Proteine (6 S Faktor) nachweisen, die nicht mit den IPNV-Antikörpern identisch sind (Dorson und de Kinkelin, 1974).

2.5. Diagnose der IPN

Als direkte und schnelle Diagnosemethode empfiehlt sich die Gefrierschnittimmunofluoreszenz, da sich der Erreger schon drei Tage p.i. im Pankreasgewebe der Fische nachweisen läßt (Swanson, 1981).

Die Virusisolierung und Vermehrung gelingt in den von Salmoniformes abstammenden Zell-Linien, z.B. RTG-2 Zellen (Rainbow trout gonads, Wolf und Quimby, 1962) oder PG-Zellen (Pike gonads, Ahne, 1979). Mit virushaltigem Material beimpfte Zellkulturen werden bei 15° C inkubiert, nach 3 - 4 Tagen zeigt sich ein deutlicher zytotatischer Effekt (Lysis).

Ein Antryspinieren des Untersuchungsmaterials erhöht die Nachweisempfindlichkeit erheblich (Aigus et.al., 1982, 1983; Ahne und Thomsen, 1986).

Mit Hilfe spezifischer Antiseren erfolgt die Identifizierung des Virus sowie der indirekte Virusnachweis mit dem Neutralisationstest, mit der Immunoperoxidase- oder mit der Immunofluoreszenztechnik (Ahne, 1981).

2.6. Bekämpfung der IPN

Das weltweite Vorkommen und das weite Wirtsspektrum des IPNV erschwert die Bekämpfung der IPN erheblich.

IPNV-Carrier unter den Forellen und klinisch inapparent infizierte atypische Wirtsfische und andere aquatische Organismen stellen eine ständige Infektionsquelle dar. Die Bekämpfung zielt daher vor allem auf die Krankheitsverhütung und die Einschränkung der Verluste ab. Da die IPN eine Erkrankung der Brut- und der Satzforellen ist, sollten vor allem in Zuchtbetrieben seuchenhygienische Maßnahmen ergriffen werden.

AHNE (1985) empfiehlt zur Eierbrütung und Brutaufzucht die Verwendung von oberflächenunabhängigem Wasser und die Desinfektion der Eier mit Jodophoren während der Befruchtung, da der Erreger mit Desinfektionsmitteln am gehärteten Ei nicht mehr zu erreichen ist (Bullock, 1976) und am Ei wochenlang haften kann (Ahne und Negele, 1985).

Eine Immunisierung gegenüber IPN ist noch nicht praktikabel. Experimentell ließen sich Immunisierungserfolge nach intraperitonealer Verabreichung formalininaktivierter IPNV-Vakzinen (Dorson, 1977) und einem spontan attenuierten IPNV-Stamm vom Barsch erzielen (Hill et.al., 1980). Eine Vakzinierung gegenüber einem IPNV-Subtyp schützt jedoch nicht vor der Infektion durch einen anderen IPNV-Subtyp (de Kinkelin et.al., 1984).

Weiterhin ist zu bedenken, daß bisher bei Forellen keine maternalen Antikörper nachgewiesen werden konnten (Dorson, 1984; de Kinkelin et.al., 1984) und die Brütlinge ihre Immunkompetenz erst zwei Wochen nach dem Schlupf erlangen (Munro und Duncan, 1977).

Die infektiöse Pankreasnekrose gehört in der Bundesrepublik Deutschland zu den meldepflichtigen Tierseuchen (BGBL. I S. 1095; 13.07.1983). Die Verordnung zum Schutz gegen die ständige Gefährdung der Süßwasserfische durch sog. Fischseuchen (Fischseuchenverordnung, 1982) zu denen auch die IPN zählt, schreibt vor, daß die Fischzuchtanlagen einmal im Jahr amtstierärztlich, tierärztlich oder fischereibiologisch hinsichtlich der Klinik, Virologie und Serologie untersucht werden.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Material und Methoden

1.1. Edelkrebse, Forelleneier und Forellenbrütlinge

Die in den Untersuchungen eingesetzten fünfzig, 2 - 3 jährigen Edelkrebse entstammten einem Zuchtbetrieb. Sie wurden in 50 l Durchflußaquarien bei einer Wassertemperatur von 10 - 12° C gehalten und mit Fisch, Karotten sowie Kartoffeln gefüttert.

Die hundert Regenbogenforelleneier im Augenpunktstadium und die zweihundert, 4 - 6 Wochen alten Regenbogenforellenbrütlinge kamen aus einem Zuchtbetrieb. Die Halterung erfolgte in 20 l Durchflußaquarien aus Kunststoff bei einer Wassertemperatur von 10 - 12° C.

1.2. Zellkulturen

Zur Reisolierung und Vermehrung des IPN-Virus dienten Hechtgonadenzellen (PG-Zellen, Ahne, 1979) der 80. - 100. und 150. - 180. Subkultur.

Für die Identifizierung der Virusisolate mit der Immunfluoreszenztechnik wurden Forellengonadenzellen (RTG-2 Zellen, Wolf und Quimby, 1962) der 150. - 160. Subkultur verwendet.

Die Subkultivierung dichtgewachsener, 7 - 10 Tage alter Zellkulturen erfolgte mit einer Saline-Trypsin-Versen-Lösung (STV) im Verhältnis 1:2 bis 1:3. Nach der Einsaat (10^6 Zellen/ml Medium) wuchsen die Zellen mit TC 199 Medium (Morgan et.al., 1950) angereichert mit 10 % fötalem Kälberserum und Antibiotika (Penicillin, 100 IE/ml; Streptomycin, 100 μ g/ml; Amphotericin B, 2,5 μ g/ml) in 1 - 2 Tagen bei 20° C zu dichten Monolayern aus. Die Einsaat der Zellen erfolgte in Plastikflaschen (25 - 175 cm²), Mikrotiterplatten sowie im offenen System unter Verwendung von 20 mM Hepes-Puffer-Zusatz zum Kulturmedium in Multiwellplatten mit 24 Vertiefungen. Für die Immunofluoreszenz wurden die Zellen in Leighton-Röhrchen gezüchtet.

1.3. Virusmaterial

Für die Untersuchung ist ein als IPNV-Subtyp Sp charakterisierter Laborstamm verwendet worden.

Die kulturinfektiöse Virusdosis (KID₅₀/O,1) wurde nach der Mikrotitermethode ermittelt, die Titerberechnung erfolgte nach der Methode KÄRBER (1931).

1.4. Virusreisolierung

1.4.1. Allgemeines

Die Virusreisolierung aus der Hämolymphe und den Organen der Edelkrebse sowie aus den Forelleneiern und -brütlingen erfolgte nach Standardmethoden (Wizigmann et.al., 1983).

Die mit 0,1 ml pro Verdünnungsstufe (10^{-1} - 10^{-8}) beimpften Zellkulturen (je drei Reagenten) wurden bei 15° C inkubiert und täglich mikroskopisch auf Zellveränderungen untersucht.

Im Abstand von 7 Tagen sind insgesamt 3 Passagen nach erfolgreichem Gefriertauen durchgeführt worden (Adsorptionsmethode).

1.4.2. Hämolymphe der Edelkrebse

Den Edelkrebsen wurde die Hämolymphe an der ventralen Seite des Abdomens mit Hilfe einer sterilen Kanüle entnommen. Pro Edelkrebs und Untersuchungstag kamen 0,2 ml Hämolymphe zur virologischen Untersuchung, wobei diese in 10er-Potenzen (10^{-1} - 10^{-8}) mit Zellkulturmedium verdünnt auf die in Mikrotiterplatten gewachsenen PG-Zellen verimpft wurde.

1.4.3. Organe und Gewebe der Edelkrebse

Den im Untersuchungszeitraum verwendeten oder mit CO₂ getöteten Edelkrebsen wurden unter sterilen Bedingungen nach Entfernung des Rückenschildes die inneren Organe entnommen. Nach der 1:10 Verdünnung (G/V) und der Inkubation (2 h, 4° C) der zerkleinerten Organe mit TC 199, angereichert mit 2 % fötalem Kälberserum und 10-fachem Antibiotikazusatz, erfolgte die virologische Aufarbeitung der Organe.

Muskulatur-, Magen-, Hepatopankreas-, Kiemen- und Haut-homogenisate sind in 10er-Potenzen (10^{-1} - 10^{-8}) auf in Multiwellplatten gewachsene PG-Zellen (0,1 ml/Vertiefung; 3 Reagenten/Verdünnungsstufe) verimpft worden. Antennendrüsen, Hoden bzw. Ovar, Herz und Darm wurden direkt auf PG-Zellen verbracht.

1.4.4. Forelleneier und Forellenbrut

Nach der 1:10 Verdünnung (G/V) und der Inkubation (2 h, 4° C) mit TC 199, angereichert mit 2 % fötalem Kälberserum und 10-fachem Antibiotikazusatz, wurden die zerkleinerten Fische weiter virologisch aufgearbeitet.

Neben der Verimpfung des nach Standardmethoden aufgearbeiteten Anzuchtmaterials erfolgten die Virusisolierungsversuche auch nach der Ko-Kultivierungsmethode (Antrypsinieren von Untersuchungsmaterial mit STV, 2 h bei 4° C; Ahne und Thomsen, 1986).

Die Organsuspensionen wurden in 10er-Potenzen mit Zellkulturmedium verdünnt (10^{-1} - 10^{-8}) und auf in Multiwellplatten gewachsene PG-Zellen verimpft (0.1 ml/Vertiefung; 3 Reagenten/Verdünnungsstufe).

Die Forelleneier sind nach der Entnahme mit sterilem Aqua dest. gewaschen (5 x 3 min) und anschließend direkt auf PG-Zellen (5 Eier/25 cm² Flasche) verbracht worden. Nach 7 Tagen wurden die Eier entnommen, zusammen mit der Hälfte des Zellkulturmediums homogenisiert und 0,5 ml des Homogenisats wurden auf in 25 cm² Flaschen gewachsene PG-Zellen verimpft worden. Das restliche Anzuchtmaterial (Zellen und verbliebenes Zellkulturmedium) ist nach erfolgreichem Gefriertauen erneut auf PG-Zellen verbracht worden. Im Abstand von 7 Tagen schlossen sich zwei Passagen an.

1.5. Virusidentifizierung

Zur Virusidentifizierung kam neben der indirekten Immunfluoreszenzmethode auch der Neutralisationstest zur Anwendung.

a) Immunofluoreszenzmethode: Die 24 Stunden nach der Impfung fixierten (Aceton) RTG-2 Monolayer wurden zuerst mit IPNV-Subtyp Sp spezifischem Forellenantiserum, danach mit FITC-markiertem Schaf-anti-Forellen IG-Immunglobulin (Ahne et.al., 1986) für jeweils 45 min bei 37° C überschichtet. Dazwischen lagen wiederholte Spülungen mit PBS. Die Beurteilung der Präparate erfolgte mit einem Leitz Dialuxmikroskop (Erregerfilter KP 490).

b) Neutralisationstest: Die Durchführung der Neutralisationsteste erfolgte in Mikrotiterplatten nach Standardmethoden (Wizigmann et.al., 1983). Die in 10er-Potenzen (10^{-1} - 10^{-8}) verdünnten Virussuspensionen (3 Reagen-ten/Verdünnungsstufe) sind im Verhältnis 1:1 mit konstanten Volumina (0,025 ml/Vertiefung und Reagent) des IPNV-Subtyp Sp spezifischen Forellenantiserums (Verdünnung 1:100) gemischt worden.

Nach einer Stunde Inkubation bei 20° C wurden zu diesem Reaktionsgemisch 0,05 ml PG-Zellsuspension pro Reagent hinzugefügt. Nach 7 Tagen bei 15° C erfolgte die Able-
sung und die Bestimmung der Neutralisationsindices.

1.6. Elektronenmikroskopie

Antennendrüsen, Hepatopankreas und die Kiemen der Edel-
krebse wurden mit einer Glutaraldehydlösung (4 % Gluta-
raldehyd; 0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,2; 5 % Saccharose) 2
- 24 Stunden bei 4° C fixiert und mit 1 % OsO₄ in Ve-
ronalacetatpuffer für 2 Stunden nachfixiert (Peterson und
Loizzi, 1974).

Nach der Entwässerung der Gewebe in einer aufsteigenden
Acetonreihe erfolgte die Einbettung in Epon 812 (Luft,
1961).

Die Ultradünnschnitte (60 - 90 nm) sind mit Uranylacetat
und Bleizitrat kontrastiert (Reynolds, 1963) und mit Hilfe
eines Zeiss Elektronenmikroskops (EM 109) ausgewertet wor-
den.

1.7. Infektion der Edelkrebse mit dem IPNV

Die IPNV-Infektion der Edelkrebse erfolgte intraperitoneal, über IPNV-haltiges Wasser, mit IPNV-haltigem Futterfischen (Forellenbrut) sowie mit IPNV-kontaminierten Wasser aus der Forellenhälterung.

1.7.1. Intraperitoneale (i.p.) Infektion der Edelkrebse mit dem IPNV

Zur i.p. Infektion wurden den Edelkrebsen 0.5 ml der Virussuspension ($10^{7.8}$ KID₅₀/0,1 ml) in den abdominalen Sinus verabreicht. Die Kontrolltiere bekamen die gleiche Menge nicht infektiösen Materials (TC 199) appliziert. Im Abstand von 7 Tagen erfolgte die Abnahme und die virologische Untersuchung der Hämolymphe.

1.7.2. Infektion der Edelkrebse mit IPNV-haltigem Wasser

In zwei getrennten Versuchen wurden 5 bzw. 9 Edelkrebse in einem Liter IPNV-haltigem ($10^{4.5}$ bzw. $10^{5.2}$ KID₅₀/0,1 ml) Wasser (10° C) eine Stunde unter Luftzufuhr gehalten. Nach der Infektion sind die Tiere in 20 l Durchflußaquarien umgesetzt worden.

Im Abstand von 7 - 14 Tagen erfolgte die Abnahme und die virologische Untersuchung der Hämolymphe.

Die Kontrolltiere wurden in gleicher Weise jedoch ohne Viruszusatz behandelt.

1.7.3. Infektion der Edelkrebse mit IPNV-haltigem Futter (Forellenbrut)

Die Fütterung der Edelkrebse erfolgte mit toten Forellenbrütlingen, die übers Hälterungswasser mit IPNV infiziert worden waren (Virustiter im Futterfisch: $10^{4,5}$ KID₅₀ / 0,1 g). Die Kontrolltiere erhielten nicht infizierte Forellenbrütlinge als Futter.

Nach vollständigem Futterverzehr (nach ca. 2 Tagen) wurde die Hämolymphe der Edelkrebse am 2., 4., 6., 8., 16. und 24. Tag abgenommen und virologisch untersucht.

34 Tage nach der ersten Fütterung erhielten die Edelkrebse erneut IPNV-infizierte Forellen zum Verzehr. Die virologische Untersuchung der Hämolymphe erfolgte bis zum 64. Tag p.i. im Abstand von 7 Tagen. Die Organe der am 64. Tag p.i. mit CO₂ getöteten Edelkrebse wurden virologisch aufgearbeitet.

1.7.4. Infektion der Edelkrebse über das Hälterungs- wasser IPNV-infizierter Forellen

30 Forellenbrütlinge sind mit IPNV über das Hälterungswasser ($10^{6,0}$ KID₅₀/ml) für 1 Stunde bei 10° C infiziert worden. Die virologische Untersuchung der Forellenbrütlinge ergab am 8. Tag p.i. einen Virustiter von $10^{5,2}$ KID₅₀/0,1 g und am 16. und 24. Tag einen Virustiter von $10^{4,5}$ KID₅₀/0,1 g.

2 Tage nach der Infektion der Forellen wurde das Hälterungswasser aus dem Forellenaquarium in ein mit 3 Edelkrebsen bestücktes Aquarium geleitet.

Am 2., 4., 6., 8., 16., 24., 31., 39. und 46. Tag p.i. erfolgte die virologische Untersuchung der Hämolymphe der Edelkrebse. Am 50. Tag p.i. sind die inneren Organe der mit CO₂ getöteten Edelkrebse virologisch aufgearbeitet worden.

1.8. Infektion der Forelleneier und Forellenbrütlinge über das Hälterungswasser IPNV-infizierter (i.p.) Edelkrebse

Sechs mit IPNV intraperitoneal infizierte Edelkrebse (s. 1.7.1.) wurden eine Woche lang im Durchflus aquarium gehalten. Danach kamen je drei Edelkrebse (Gruppe 1 und 2) für 7 Tage in ein mit einem Liter Wasser versehenes und belüftetes Aquarium.

Im Abstand von 24 Stunden erfolgte die Entnahme von 2 ml Wasser zur virologischen Untersuchung.

Am 8. Tag p.i. sind die Edelkrebse in zwei 20 Liter Durchflußaquarien umgesetzt worden. Im verbliebenen Hälterungswasser der Edelkrebse (Gruppe 1 und 2) wurden je 15 Forellenbrütlinge und je 25 Forelleneier gehalten. 12 Stunden danach sind die Forellen in 20 Liter Durchlaufaquarien umgesetzt worden. Nach 3 und 7 Tagen kamen je drei lebende sowie die im Untersuchungszeitraum verwendeten Fische zur virologischen Untersuchung.

Je fünf Eier wurden nach 6, 12, 24, 48 und 72 Stunden virologisch aufgearbeitet.

Am 10. Tag p.i. wurden drei i.p. infizierte Edelkrebse (Gruppe 1) zusammen mit 50 Forellenbrütlingen und 30 Forelleneiern in einem Durchflußaquarium gehältert. Die Entnahme der Forelleneier (je 5) erfolgte nach 6, 12, 24, 48 und 72 Stunden.

Je fünf Forellenbrütlinge dieser Versuchsgruppe wurden nach 6, 12, 24 und 72 Stunden sowie nach 6, 9, 12, 15 und 21 Tagen entnommen und virologisch aufgearbeitet.

2. Ergebnisse

2.1. Empfänglichkeit der Edelkrebse für das IPNV

Für die Untersuchung der IPNV-Empfänglichkeit der Edelkrebse erfolgte die IPNV Infektion intraperitoneal, über IPNV-haltiges Wasser, mit IPNV-haltigem Futter sowie über das Hälterungswasser IPNV-infizierter Forellenbrut. Die Hämolymphe und die Organe der infizierten Edelkrebse wurden auf IPNV-Präsenz untersucht.

2.1.1. Infektion der Edelkrebse mit IPNV-haltigem Wasser

Von den fünf mit einer Infektionsdosis von $10^{4,5}$ KID₅₀/0,1 ml H₂O infizierten Edelkrebsen erwies sich 7 Tage p.i. die Hämolymphe dreier Tiere als viruspositiv (Titer $10^{1,8}$ - $10^{2,5}$ KID₅₀/0,1 ml Hämolymphe) (Tab. 4).

In der Hämolymphe eines Edelkrebses (Edelkrebs Nr. 5) konnte auch 42 Wochen p.i. das IPNV mit einem Titer von $10^{1,5}$ KID₅₀/0,1 ml Hämolymphe) nachgewiesen werden.

Tabelle 4: Reisolierung des IPN-Virus aus der Hämolymphe der über IPNV-haltiges Wasser infizierten Edelkrebse (7 Tage p.i.)

Edelkrebs Nr.						
1	2	3	4	5	K	
Tage p.i.	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 ml Hämolymphe					
7	0,0	1,8	1,8	0,0	2,5	0,0

K = Kontrollen

Während der Untersuchung legten die zwei infizierten weiblichen Tiere ca. 4 Wochen p.i. Eier ab. Die virologische Untersuchung der Eier ergab einen positiven Virusbefund (Titer $10^{2,5}$ KID₅₀/0,1 g Eier).

Bei den am 76., 98., 114. bzw. 160. Tag verendeten Edelkrebsen ließ sich das IPNV mit einem Titer von $10^{1,5}$ KID₅₀/0,1 g Organ aus den Kiemen isolieren.

Bei drei Tieren erwiesen sich auch der Magen bzw. Hepatopankreas als viruspositiv (Tab. 5).

Tabelle 5: Reisolierung des IPN-Virus aus den Organen der über IPNV-haltiges Wasser infizierten Edelkrebse (76., 98., 114. und 160. Tag p.i.)

	Edelkrebs Nr.				
	1	2	3	4	K
gestorben Tage p.i.	114	98	76	160	
Organe	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 g Organ				
Kiemen	1,5	1,5	1,5	1,5	0,0
Hepatopankreas	0,0	0,0	+	1,5	0,0
Magen	+	0,0	0,0	1,5	0,0

+ = viruspositiv nach einer Passage, K = Kontrollen

2.1.2. Intraperitoneale Infektion der Edelkrebse

mit IPNV

Aus der Hämolymphe der mit 0,5 ml Virussuspension (Titer $10^{7,8}$ KID₅₀/0,1 ml) IPNV-infizierten Edelkrebse ließ sich das Virus in hohen Titern 7 - 49 Tage lang reisolieren (Tab. 6).

Tabelle 6: Reisolierung des IPN-Virus aus der Hämolymphe der mit IPNV intraperitoneal infizierten Edelkrebse

	Edelkrebs Nr.			
	6	7	8	K
Tage p.i.	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 ml Hämolymphe			
7	6,5	6,8	5,8	0,0
14	6,8	6,8	7,2	0,0
21	6,5	7,8	6,8	0,0
28	5,8	6,8	Häutung	0,0
35	5,8	6,5	6,2	0,0
42	5,8	+	6,5	0,0
49	5,8		+	0,0
gestorben Tage p.i.	54	37	42	-

K = Kontrollen, + = gestorben

Auch die Organe der am 37., 42. und 54. Tag p.i. verendeten Edelkrebse erwiesen sich als viruspositiv (Tab. 7).

Tabelle 7: Reisolierung des IPN-Virus aus verschiedenen Organen und Geweben der am 37., 42. und 54. Tag nach der intraperitonealen IPNV-Infektion verendeten Edelkrebse

	Edelkrebs Nr.			
	6	7	8	K
gestorben	54	37	42	
Tage p.i.				
Organe/Gewebe	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 g Organ			
Magen	3,8	5,2	3,8	0,0
Hepatopankreas	4,2	6,2	4,5	0,0
Muskulatur	3,2	4,8	4,2	0,0
Haut	5,2	4,8	4,5	0,0
Antennendrüse	+	+	+	0,0
Herz	+	+	+	0,0
Darm	+	n.u.	+	0,0
Gonaden	+	+	+	0,0

+ = viruspositiv in der Anzucht (ohne Titration)

n.u. = nicht untersucht, K = Kontrollen

2.1.3. Infektion der Edelkrebse mit IPNV-haltigem Futter

In der Hämolymphe der drei mit IPNV-haltigem Fisch (Titer $10^{4 \cdot 5}$ KID₅₀/0,1 g Futter) gefütterten Edelkrebse ließ sich das IPNV nicht nachweisen.

Von den Organen der am 64. Tag p.i. getöteten Edelkrebse erwies sich dagegen bei allen drei Tieren das Hepatopankreas als viruspositiv. Bei einem Tier konnte das IPNV auch aus den Kiemen isoliert werden (Tab. 8).

Tabelle 8: Reisolierung des IPN-Virus aus Edelkrebsen
64 Tage nach der Fütterung mit IPNV-
infizierten Forellenbrütlingsen

Organe	Edelkrebs Nr.			
	9	10	11	K
Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 g Organ				
Hepatopankreas	+	2,5	1,8	0,0
Kiemen	+	0,0	0,0	0,0

+ = viruspositiv nach einer Passage

K = Kontrollen

2.1.4. Infektion der Edelkrebse über das Hälterungs-
wasser IPNV-infizierter Forellenbrütlinge

Die virologische Untersuchung der Hämolymphe der Edelkrebse ergab 6 Tage p.i. in einem Fall einen viruspositiven Befund.

Nur in den Kiemen der am 50. Tag p.i. getöteten Edelkrebse konnte bei der virologischen Untersuchung der Organe das IPNV nachgewiesen werden (Tab. 9).

Tabelle 9: Reisolierung des IPN-Virus aus den Kiemen
der im Hälterungswasser IPNV-kontaminierter
Forellen gehaltenen Edelkrebse
(50 Tage p.i.)

	Edelkrebs Nr.			
	12	13	14	K
Tage p.i.	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 g Organ			
50	1,5	1,8	1,5	0,0

K = Kontrollen

2.2. Persistenz des IPNV in der Hämolymphe und in den Organen der Edelkrebse

In zwei Langzeitversuchen mit IPNV-infizierten Edelkrebsen (i.p. Infektion, Infektion über IPNV-haltiges Wasser) wurde die Viruspersistenz ermittelt.

2.2.1. Persistenz der IPN-Viren im Organismus der mit IPNV-haltigem Wasser infizierten Edelkrebse

Aus der Hämolymphe ließ sich bei allen mit IPNV-haltigem Wasser (Titer $10^{5,2}$ KID₅₀/0,1 ml H₂O) infizierten Edelkrebsen über 14 Wochen hinaus das IPNV isolieren (Tab. 10).

Bei zwei Edelkrebsen erwies sich die Hämolymphe auch nach erfolgter Häutung (16. Woche) als viruspositiv (Tab. 10). 28 Wochen p.i. konnte das IPNV in der Hämolymphe der gehäuteten Edelkrebse nicht mehr nachgewiesen werden.

Tabelle 10: Reisolierung des IPNV aus der Hämolymphe
der über das Hälterungswasser infizierten
Edelkrebse

	Edelkrebs Nr.									
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	K
Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 ml Hämolymphe										
Tage p.i.										
2	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	0,0
4	1,5	1,8	1,5	1,5	< 1	< 1	1,5	2,2	2,8	0,0
6	1,8	1,8	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,8	0,0
8	1,5	1,5	1,8	< 1	1,8	1,8	< 1	1,8	2,2	0,0
16	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	< 1	< 1	2,2	0,0
24	1,5	1,5	1,8	1,5	1,5	1,5	1,5	< 1	2,2	0,0
Wochen p.i.										
5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	2,2	0,0
6	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	2,2	0,0
7	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	2,2	0,0
8	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,8	0,0
9	1,5	< 1	1,5	< 1	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	0,0
10	< 1	< 1	1,5	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1,5	0,0
11	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1,5	0,0
12	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1,5	0,0
13	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1,5	0,0
14	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	1,5	0,0
15	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	†	†	†	†	0,0
16	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1					0,0
17	< 1	†	< 1	n.u.	n.u.					0,0
20	< 1		< 1	n.u.	n.u.					0,0
22	n.u.		n.u.	< 1	< 1					0,0
24	†		†	< 1	< 1					0,0
28				0,0	0,0					0,0

† = nach der Häutung verwendet, K = Kontrollen
n.u. = nicht untersucht

In der 15., 17. und 24. Woche p.i. verendeten 7 Edelkrebse nach der Häutung. Bei 6 Edelkrebsen erfolgte die virologische Untersuchung der Organe.

Die Kiemen erwiesen sich bei allen 6 Tieren als viruspositiv ($10^{1.5} - 10^{4.5}$ KID₅₀/0,1 g Organ). Das IPN-Virus ließ sich im Hepatopankreas (3 x), im Magen (2 x), in der Haut (2 x), in den Gonaden (3 x), in der Muskulatur (1 x), in den Antennendrüsen (1 x), im Herz (1 x) und im Darm (1 x) nachweisen.

Bei einem Edelkrebs (Nr. 20) erwiesen sich alle Organe als viruspositiv (Tab. 11).

Tabelle 11: Reisolierung des IPN-Virus aus den Geweben und Organen gestorbener Edelkrebse nach der Hälterung in IPNV-haltigem Wasser

	Edelkrebs Nr.						
	15	16	17	19	20	23	K
gestorben							
Tage p.i.	161	116	155	102	101	104	
Gewebe/Organe	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 g Organ						
Muskulatur	0,0	0,0	0,0	0,0	3,5	0,0	0,0
Kiemen	1,8	1,5	1,8	1,5	4,5	1,5	0,0
Hepatopankreas	0,0	0,0	+	0,0	2,5	+	0,0
Magen	0,0	0,0	+	0,0	2,5	+	0,0
Haut	0,0	0,0	0,0	1,5	3,5	0,0	0,0
Antennendrüsen	0,0	0,0	0,0	0,0	+	0,0	0,0
Gonaden	0,0	0,0	+	+	+	0,0	0,0
Herz	0,0	0,0	0,0	0,0	+	0,0	0,0
Darm	0,0	0,0	0,0	0,0	+	0,0	0,0

+ = viruspositiv nach einer Passage

K = Kontrollen

2.2.2. Persistenz der IPN-Viren im Organismus der mit
IPNV intraperitoneal infizierten Edelkrebse

Aus der Hämolymphe der 6 mit IPNV intraperitoneal (0,5 ml Virussuspension mit einem Titer von $10^{7,8}$ KID₅₀ / 0,1 ml) infizierten Edelkrebse ließ sich das Virus in hohen Titern bis zu einem Jahr p.i. isolieren. Bei einem Tier (Edelkrebs Nr. 29) konnte auch nach erfolgter Häutung (160. Tag p.i.) das IPNV in der Hämolymphe nachgewiesen werden (Tab. 12).

Tabelle 12: Reisolierung des IPN-Virus aus der Hämolymphe intraperitoneal IPNV-infizierter Edelkrebse über 52 Wochen hinweg

Edelkrebs Nr.							
	24	25	26	27	28	29	K
Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 ml Hämolymphe							
Tage							
p.i.							
2	7,8	7,2	7,2	7,8	7,5	7,8	0,0
4	7,8	7,2	7,2	6,8	7,5	7,5	0,0
6	7,2	7,5	7,2	7,2	6,8	7,5	0,0
16	7,2	6,5	7,2	7,8	6,8	7,2	0,0
24	5,8	7,5	5,8	6,8	6,5	6,8	0,0
Wochen							
p.i.							
5	5,8	5,5	5,8	6,2	6,5	6,2	0,0
8	†	6,8	n.u.	6,5	n.u.	6,5	0,0
10	42	5,5	5,8	7,5	5,8	7,2	0,0
13	T.p.i.	5,5	5,8	7,5	5,5	6,8	0,0
18		†	†	7,2	5,5	6,8	0,0
22		93	100	†	†	6,8*	0,0
26		T.p.i.	T.p.i.	150	149	6,8	0,0
30				T.p.i.	T.p.i.	6,5	0,0
34						6,2	0,0
38						5,8	0,0
42						5,8	0,0
44						5,5	0,0
48						5,5	0,0
52						5,5	0,0

n.u. = nicht untersucht, * = gehäutet, † = verendet

K = Kontrollen, T.p.i. = Tage p.i.

Drei Edelkrebse verendeten am 42., 93. und 149. Tag p.i., weitere zwei Tiere sind nach der Häutung am 100. bzw. 150. Tag p.i. gestorben.

Aus allen untersuchten Organen ließ sich das IPNV mit hohen Titern isolieren (Tab. 13).

Tabelle 13: Reisolierung des IPN-Virus aus den Geweben und Organen der nach IPNV-Infektion (i.p.) verendeten Edelkrebse

	Edelkrebs Nr.				
	24	25	26	27	K
gestorben					
Tage p.i.	42	93	100	150	-
Gewebe/Organe	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 g Organ				
Muskulatur	5,8	4,5	5,8	4,5	0,0
Magen	5,5	4,5	6,2	5,5	0,0
Kiemen	6,8	4,5	6,2	4,5	0,0
Hepatopankreas	6,2	4,2	6,2	+	0,0
Antennendrüsen	+	+	+	+	0,0
Darm	+	+	+	+	0,0
Herz	+	+	+	+	0,0
Gonaden	+	+	+	+	0,0

+ = viruspositiv in der Anzucht (ohne Titration)

K = Kontrollen

2.3. Ausscheidung des IPN-Virus ins Hälterungswasser durch IPNV-infizierte Edelkrebse

Für diese Untersuchung erfolgte die Hälterung je dreier IPNV-infizierter Edelkrebse 7 Tage lang in 1 Liter Wasser mit Belüftung.

2.3.1. Ausscheidung des IPN-Virus ins Hälterungswasser nach der Infektion der Edelkrebse mit IPNV-haltigem Wasser

Je drei der 9 über IPNV-haltiges Wasser (s. 2.2.1.) infizierten Edelkrebse wurden in der 4., 7. und 10. Woche p.i. wie oben beschrieben gehältert.

Im Hälterungswasser der ersten Gruppe (4. Wo. p.i.) konnte bereits nach 24 Stunden das IPNV nachgewiesen werden. Nach 144 Stunden erwies sich auch das Hälterungswasser der zweiten (7. Wo. p.i.) und dritten (10. Wo. p.i.) Gruppe als viruspositiv (Tab. 14)

Tabelle 14: Reisolierung des IPN-Virus aus dem Hälterungswasser der vor 4, 7 und 10 Wochen infizierten Edelkrebse 24 - 144 Stunden nach dem Umsetzen in neue Aquarien

		Stunden nach dem Umsetzen der infizierten Edelkrebse					
		24	48	72	96	120	144
infizierte Edel- krebse um- gesetzt nach Wochen p.i	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 ml H ₂ O						
4 Edelkrebse Nr. 15, 18, 21	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
7 Edelkrebse Nr. 16, 19, 22	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	< 1
10 Edelkrebse Nr. 17, 20, 23	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	< 1

2.3.2. Ausscheidung des IPN-Virus ins Hälterungswasser
nach der intraperitonealen Infektion der
Edelkrebse mit IPNV

Zwei der intraperitoneal mit IPNV infizierten Edelkrebse wurden am 40. Tag p.i. wie unter 2.3. beschrieben gehältert. Bereits 24 Stunden nach dem Umsetzen konnte im Hälterungswasser der Edelkrebse das IPNV nachgewiesen werden (Tab. 15).

Tabelle 15: Reisolierung des IPN-Virus aus dem Hälterungswasser der intraperitoneal mit IPNV infizierten Edelkrebse

	Stunden nach dem Umsetzen der infizierten Edelkrebse					
	24	48	72	96	120	144
Tage p.i.	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 ml H ₂ O					
40	< 1	< 1	< 1	1,5	1,5	1,5

2.4. Infektion der Forelleneier und Forellenbrütlinge
mit Hälterungswasser der IPNV-infizierten (i.p.)
Edelkrebse

2.4.1. IPNV-Ausscheidung der Edelkrebse

6 mit IPNV intraperitoneal (Titer der Virussuspension: $10^{7.8}$ KID₅₀/0.1 ml) infizierte Edelkrebse wurden eine Woche lang in zwei Dreiergruppen in 1 Liter Wasser mit Belüftung gehalten. Zur Überprüfung der IPNV-Ausscheidung ins Hälterungswasser erfolgte eine zeitlich abgestufte (4 - 168 Stunden) virologische Untersuchung des Wassers (Tab.16).

Tabelle 16: Reisolierung des IPNV aus dem Hälterungs-
wasser intraperitoneal infizierter
Edelkrebse

	Gruppe 1	Gruppe 2
Tage p.i.	7	7
Stunden nach dem Umsetzen	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 ml H ₂ O	
4	< 1	0,0
8	1,5	< 1
12	1,8	< 1
24	2,2	< 1
48	2,5	< 1
72	2,5	< 1
96	2,5	< 1
120	2,5	< 1
144	2,5	< 1
168	2,5	< 1

2.4.2. Infektion der Forelleneier mit Hälterungs-
wasser der IPNV-infizierten (i.p.) Edelkrebse

Bereits nach 12 Stunden erwiesen sich die Forelleneiern im Hälterungswasser der Edelkrebse der Gruppe 1 (stationär und im Durchflußaquarium) als viruspositiv.

Nach 24 Stunden ließ sich das IPNV auch bei den Eier im Hälterungswasser der Edelkrebse der Gruppe 2 (stationär) nachweisen (Tab. 17).

Tabelle 17: Nachweis des IPNV bei Forelleneiern
nach der Infektion mit Hälterungswasser
IPNV-infizierter Edelkrebse
(stationär und im Durchflußaquarium)

Stunden p.i.	Gruppe 1		Gruppe 2	K
	Durchflußaquarium	stationär	stationär	
6	-	-	-	-
12	+	+	-	-
24	+	+	+	-
48	+	+	+	-
72	+	+	+	-

- = virusnegativ, + = viruspositiv, K = Kontrollen

2.4.3. Infektion der Forellenbrut mit Hälterungswasser
IPNV-infizierter (i.p.) Edelkrebse

Die im Hälterungswasser der Edelkrebse der Gruppe 1 gehaltenen Forellen erwiesen sich nach drei Tagen als viruspositiv (Titer $10^{1.5}$ KID₅₀/0,1 g Fisch). Am 8. Tag ergab die virologische Untersuchung der Forellen einen Virustiter von $10^{3.8}$ KID₅₀/0,1 g Fisch.

Bei den Forellenbrütlingsen aus dem Durchflußaquarium und aus dem Hälterungswasser der Edelkrebse der Gruppe 2 konnte dagegen kein Virus nachgewiesen werden (Tab. 18).

Tabelle 18: Reisolierung des IPNV aus Forellen, die im
Hälterungswasser infizierter Edelkrebse
gehalten wurden

	im Durchfluß- aquarium	Forellen gehalten im Hälterungswasser	
		der Gruppe 1 und nach 12 h umgesetzt	im Hälterungswasser der Gruppe 2 und
Tage p.i.	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 g Fisch		
1	0,0	0,0	0,0
3	0,0	1,5	0,0
6	0,0	n.u.	n.u.
8	n.u.	3,8*	0,0
9	0,0		n.u.
12	0,0		n.u.
15	0,0		0,0
21	0,0		n.u.

n.u. = nicht untersucht

* = Forellen zu Edelkrebsen umgesetzt s.u.

Fünf der im Hälterungswasser infizierter Edelkrebse (Gruppe 1) gehaltenen Forellen ($10^{3.8}$ KID₅₀/0,1 g Fisch) wurden 8 Tage p.i. in ein mit drei virusfreien Edelkrebsen bestücktes Durchflußaquarium umgesetzt. Nach 15 Tagen hatten die Edelkrebse die Forellenbrütlinge gefressen.

In Abständen von 7 Tagen nach dem Umsetzen erfolgte die virologische Untersuchung der Hämolymphe dieser Edelkrebse.

Am 21. Tag wurden die Organe der Edelkrebse virologisch aufgearbeitet.

Als viruspositiv erwiesen sich bei allen drei Edelkrebsen die Kiemen und in einem Fall die Gonaden (Tab. 19). In der Hämolymphe konnte dagegen kein IPNV nachgewiesen werden.

Tabelle 19: Reisolierung des IPNV aus den Organen der Edelkrebse 21 Tage nach der gemeinsamen Hälterung mit IPNV-infizierten Forellen (Tab.18) Die Forellen wurden von den Edelkrebsen innerhalb von 2 Wochen gefressen

	Edelkrebs Nr.		
	28	29	30
Organe	Virustiter log 10 KID ₅₀ /0,1 g Organ		
Kiemen	1,5	+	+
Gonaden	+	0,0	0,0

+ = viruspositiv nach einer Passage

2.5. Virusidentifizierung

Alle Virusisolate wurden mit Hilfe der indirekten Immunfluoreszenztechnik als IPNV Subtyp Sp identifiziert.

Weiterhin erfolgte die Identifizierung von 7 Virusisolaten aus der Hämolymphe, den Organen und den Eiern der Edelkrebse mit Hilfe des Virusneutralisationstestes unter Verwendung von IPNV-Sp spezifischem Forellenantiserum (Tab. 25).

Tabelle 25: Neutralisation der 7 aus den Edelkrebsen stammenden IPNV-Isolate mit IPNV-Sp spezifischem Forellenantiserum

	Edelkrebs Nr.				
	2	3	4	5	K
Isolat	Neutralisationsindex log 10 ND ₅₀				
Hämolymphe	6,8	6,8	-	> 7	-
Kiemen	-	3,0	-	-	-
Hepatopankreas	-	-	3,4	-	-
Eier	-	> 7	-	6,5	-

- = virusnegativ, K = Kontrollen

2.6. Elektronenmikroskopie

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung der Organe der intraperitoneal mit IPNV-infizierten Edelkrebse konnte das Virus in den Hämozyten der Antennendrüsen (Abb.3), des Hepatopankreas (Abb. 4 und 5) und der Kiemen (Abb. 6) nachgewiesen werden.

In den zytoplasmatischen Granula der Hämozyten fanden sich 60 - 65 nm große, ikosaederförmige, unbehüllte Partikel. Die Viren ließen sich auch in den im Bindegewebe des Hepatopankreas befindlichen Phagozyten ermitteln (Abb. 7).

In den Kiemen eines verendeten intraperitoneal mit IPNV infizierten Edelkrebses (Nr. 25) wurden im Zytoplasma einer Bindegewebszelle ca. 20 nm große, ikosaederförmige, unbehüllte Partikel gefunden. Diese kristallin angeordneten Partikel (Abb. 8) haben Ähnlichkeit mit den von FOSTER et.al. (1981) bei Penaeus aztecus beschriebenen und mit Picornaviren verglichenen Viruspartikeln.

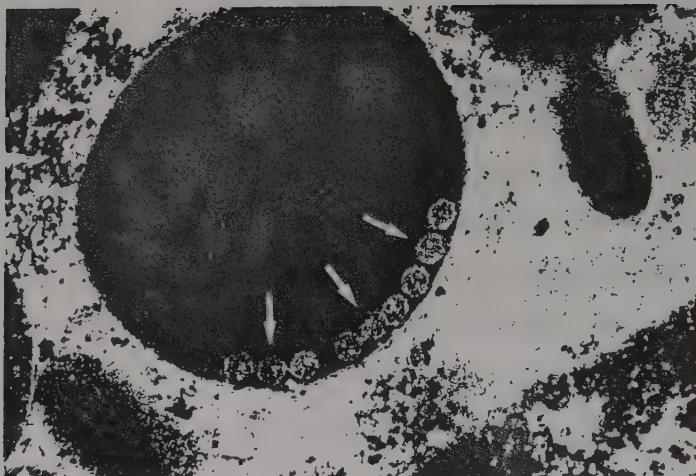


Abb. 3 Elektronenmikroskopische Darstellung eines Hämocyten in der Antennendrüse eines IPNV-infizierten Edelkrebses mit IPNV-Viren (Pfeile) in einem zytoplasmatischen Granulum (ca. 78 000 x)



Abb. 4 Elektronenmikroskopische Darstellung eines Hämocyten im Hepatopankreas eines IPNV-infizierten Edelkrebses mit IPNV-Viren (Pfeile) in den zytoplasmatischen Granula (ca. 75 000 x)

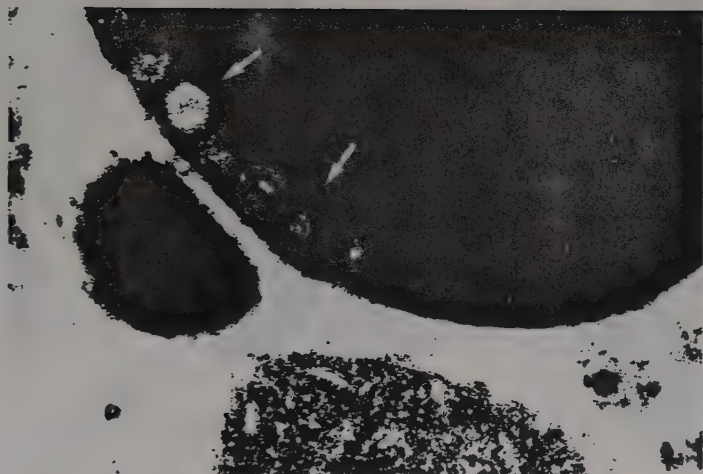


Abb. 5 Elektronenmikroskopische Darstellung eines Hämozyten im Hepatopankreas eines IPNV-infizierten Edelkrebses mit IPN-Viren (Pfeile) in einem zytoplasmatischen Granulum; im rechten Teil des Granulums sind vermutlich Abbaustufen der IPN-Viren dargestellt (ca. 140 000 x)

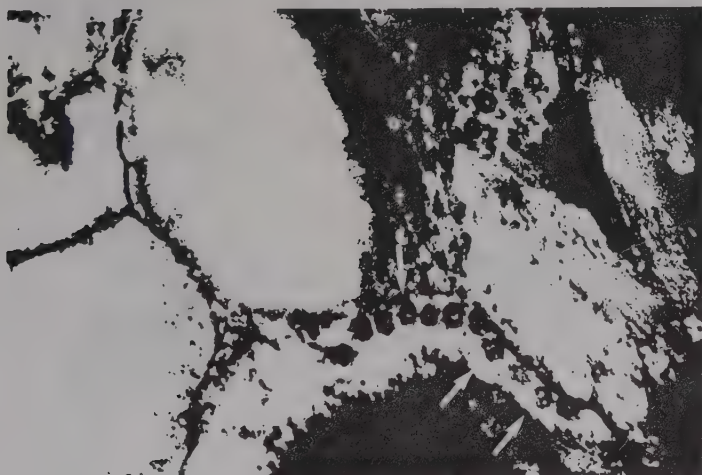


Abb. 6 Elektronenmikroskopische Darstellung eines Hämozyten in den Kiemen eines IPNV-infizierten Edelkrebses mit IPN-Viren (Pfeile) in den zytoplasmatischen Granula (ca. 65 000 x)

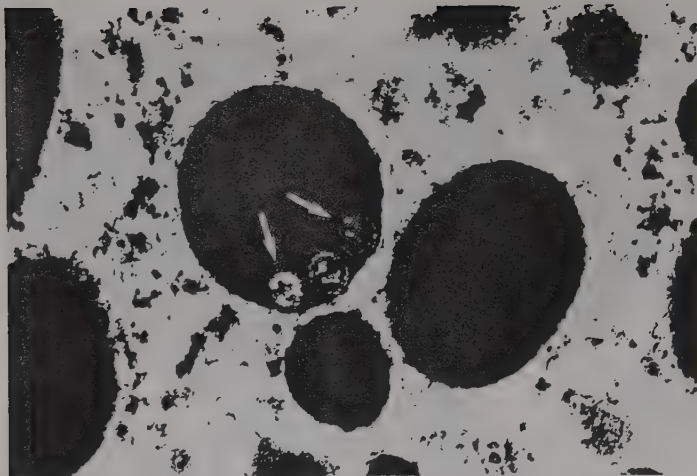


Abb. 7 Elektronenmikroskopische Darstellung eines Phagozyten im Bindegewebe des Hepatopankreas eines IPNV-infizierten Edelkrebses mit IPN-Viren (Pfeile) in einem zytoplasmatischen Granulum (ca. 110 000 x)

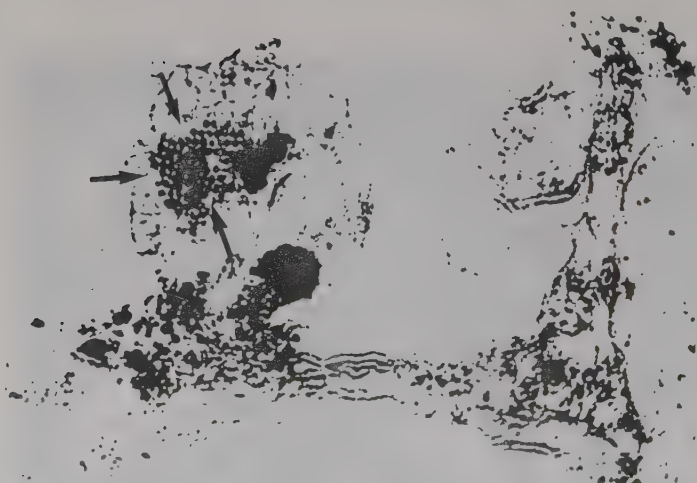


Abb. 8 Elektronenmikroskopische Darstellung des Kiemengewebes eines Edelkrebses. Im Zytoplasma einer Bindegewebszelle sind ca. 20 nm große kristallin angeordnete Viruspartikel zu sehen (Pfeile) (ca. 46 000 x)

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Die eingangs gestellten Fragen können aufgrund der vorliegenden Ergebnisse nunmehr wie folgt beantwortet werden:

1. Der Edelkrebs ist für das IPNV empfänglich.
2. Das IPNV persistiert im Edelkrebs über längere Zeiträume.
3. Das IPNV wird vom Edelkrebs kontinuierlich ausgeschieden.
4. Mit dem vom Edelkrebs ins Hälterungswasser ausgeschiedenen IPNV können Forellenbrütlinge und Forelleneier infiziert werden.
5. Das IPNV läßt sich elektronenmikroskopisch in den zytoplasmatischen Granula der Hämozyten und Phagozyten nachweisen.

Im Falle der IPN sind die Wege der Erregerverbreitung noch nicht gänzlich erforscht; die vorliegenden Ergebnisse weisen jedoch darauf hin, daß der Edelkrebs neben anderen aquatischen Organismen als beliebter IPN-Vektor angesehen werden muß.

Es ist seit langem bekannt, daß IPNV-Carrierfische den Erreger kontinuierlich ins Wasser ausscheiden (Yamamoto, 1975 a und b; Yamamoto und Kilistoff, 1979). Edelkrebse, die zusammen mit IPNV-infizierten Fischen gehältert werden, können nach den vorliegenden Untersuchungen das IPNV aus dem Wasser aufnehmen und über 7 Wochen hinweg beherbergen.

Da unter natürlichen Bedingungen Fische und Edelkrebse vielfach ein gemeinsames Biotop bewohnen, ist die Gefahr der wechselseitigen IPNV-Aufnahme und Abgabe gegeben. Diese Tatsache stellt für die seuchenhygienischen Gewässerschutzmaßnahmen einen bedeutenden Befund dar.

DIGIROLAMO et.al. (1972 a und b) sowie HEJKAL und GERBA (1983) konnten nachweisen, daß Krabben (Cancer magister, C. antennarius; Pachygrapsus sp., Hemigrapsus nudus; Callinectes sapidus) fähig sind, aus kontaminiertem Wasser Bakteriophagen, Polioviren, Simian Rotaviren sowie Echoviren aufzunehmen. Die Erreger ließen sich sowohl in der Hämolymphe als auch im Verdauungstrakt und in der Muskulatur der Tiere nachweisen.

Derartige Befunde über die Empfänglichkeit der Crustaceen für verschiedene Viren sind von großem epidemiologischem (soweit es sich um menschenpathogene Erreger handelt) sowie auch von epizootiologischem (soweit es sich um tierpathogene Erreger handelt) Interesse.

Ein weiterer interessanter Befund dieser Arbeit ist, daß aus den während des Untersuchungszeitraumes abgelegten Edelkrebseiern, (ca. 4 Wo. p.i.) das IPNV reisoliert werden konnte. Es war in dieser Untersuchung jedoch nicht zu klären, ob die Infektion der Eier über das Hälterungswasser oder während der Oogenese erfolgte. In den Ovarien des am 76. Tag p.i. verendeten Edelkrebsweibchens war der Erreger jedenfalls nicht nachzuweisen.

Die IPNV-infizierten Edelkrebsweibchen stießen nach kurzer Zeit die Eier ab, die normalerweise bis zum Schlupf der Embryonen am Abdomen des Edelkrebsweibchens haften. Ob das IPNV für das Abwerfen der Eier verantwortlich zu machen ist, war in den vorliegenden Untersuchungen nicht zu beantworten. Es ist jedoch bekannt, daß verpilzte, abgestorbene oder nicht befruchtete Eier von den Weibchen ebenfalls abgeworfen werden (Müller, 1978).

Bei den Edelkrebsen gelang eine IPNV-Infektion mit IPNV-haltigem Futter (Forellenbrut). Das IPNV ließ sich bei allen infizierten Tieren 64 Tage p.i. aus dem Hepatopankreas und bei einem Tier auch aus den Kiemen reisolieren.

Einen weiteren Beweis für die orale Aufnahme von Viren durch Crustaceen erbrachten DIGIROLAMO et.al. (1972 a), indem die Autoren nach Verfüttern von Poliovirus-haltigen Muscheln die Erreger in den Organen der Krabben Pachygrapsus sp. und Hemigrapsus nudus nachwiesen.

In seinem natürlichen Lebensraum ernährt sich der Edelkrebs außer von Pflanzen und kleineren Tieren wie Insekten und deren Larven, Würmern sowie Schnecken, auch von kranken oder geschwächten Fischen. Ebenso stellen frisch verendete Fische eine Nahrungsquelle der Edelkrebse dar (Hofmann, 1979).

Das große Wirtsspektrum des IPNV (Ahne, 1985) könnte den Edelkrebs in die Lage versetzen, das IPNV mit der Fischeinnahme aufzunehmen, womit er zum belebten IPN-Vektor wird. Über ähnliche heteronome IPNV-Infektionszyklen beim Hecht hat AHNE (1983 a) berichtet.

In der Literatur werden fischfressende warmblütige Tiere auch als IPNV-Vektoren diskutiert. Im Kot experimentell über die Nahrung infizierter Tiere (Vögel, Nerze) ermittelten SONSTEGARD und MCDERMOTT (1972) das IPNV. Da offensichtlich keine Vermehrung der IPN-Viren im Organismus dieser Tiere festzustellen war, müssen diese als mechanische Vektoren betrachtet werden. Ähnliches gilt für die mit IPNV-infizierten Edelkrebse. In keinem Fall konnte eine Vermehrung des IPNV im Organismus der infizierten Edelkrebse nachgewiesen werden.

MCCUMBER und CLEM (1977) wiesen in ihren Untersuchungen nach, daß Krabben (Callinectes sapidus) fähig sind intraperitoneal injizierte Polioviren sowie die Bakteriophagen T2 und T4 innerhalb von drei Stunden aus der Hämolymphe zu eliminieren und in den Kiemen bzw. im Gewebe des Hepatopankreas anzureichern. Dagegen blieben die Titer der Bakteriophagen T3, T7 und Ø II in der Hämolymphe unverändert hoch.

Bei den intraperitoneal mit IPNV-infizierten Edelkrebsen sanken die in der Hämolymphe ermittelten Virustiter langsam ab. Ursache hierfür könnte ein enzymatischer Virusabbauprozess in den Granula der Hämozyten sein. Hinweise hierfür gibt das in Abb. 5 dargestellte IPNV-haltige Granulum (s. 83). In diesem Granulum sind sowohl vollständige IPNV-Partikel als auch mutmaßliche Abbaustufen der Viren zu erkennen.

Es wäre denkbar, daß die Enzyme des Prophenoloxidase-Aktivierungssystems, die sich in den Granula der semigranulären und granulären Hämozyten befinden, den Abbauvorgang induzieren. Dieses enzymatische System spielt eine entscheidende Rolle bei der zellulären Abwehr der Crustaceen; es besitzt opsonine, antimikrobielle und lytische Eigenschaften (Söderhäll und Smith, 1986). Neben dem Enzym Prophenoloxidase ist auch eine Protease nachgewiesen worden (Smith und Söderhäll, 1983 a und b; Söderhäll et.al., 1984). JOHNSON (1980) betont zudem die Existenz lysosomaler Enzyme in den Granula der Crustaceenhämozyten.

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchungen zeigen weiter, daß das IPNV über längere Zeiträume im Edelkrebs persistieren kann.

Bei allen mit IPNV-haltigem Wasser infizierten Edelkrebsen konnte das IPNV in der Hämolymphe bis zur 15. Woche p.i. nachgewiesen werden. Die Hämolymphe eines Edelkrebses erwies sich sogar 42 Wochen p.i. noch als viruspositiv. Bei zwei Edelkrebsen ließ sich das IPNV auch nach der Häutung der Tiere (16. Wo. p.i.) noch 8 Wochen lang aus der Hämolymphe reisolieren.

Das aus dem Hälterungswasser IPNV-infizierter Forellen von den Edelkrebsen aufgenommene IPN-Virus ließ sich in den Kiemen der Tiere noch 7 Wochen p.i. ermitteln.

Bei den mit IPNV-haltigem Futter infizierten Edelkrebsen erwiesen sich der Hepatopankreas aller Edelkrebse sowie die Kiemen eines Edelkrebses am 30. Tag nach der letzten Fütterung als viruspositiv.

In Untersuchungen mit Krabben (Callinectes sapidus), die aus kontaminiertem Wasser Enteroviren und Bakteriophagen aufgenommen hatten, waren die Viren nur bis zu einer Woche im Organismus nachzuweisen (Hejkal und Gerba, 1983). Ob bei dieser Krabbenart spezielle virusabbauende Prozesse eine Rolle spielen ist ungeklärt.

Eine interessante Beobachtung ist ferner, daß in der Hämolymphe der mit IPNV intraperitoneal infizierten Edelkrebse die Erreger sogar bis zu einem Jahr mit hohen Titern ($10^{5.5}$ KID₅₀/0,1 ml) persistieren. Bei den Tieren, die während oder kurz nach der Häutung verendet waren, ließ sich das IPNV in allen Organen nachweisen. Es konnte jedoch nicht geklärt werden, ob die IPNV-Infektion für den Tod der Edelkrebse während der Häutung ursächlich war. Pathologische Veränderungen wurden jedenfalls nicht festgestellt.

Aufgrund der langen Persistenzdauer des IPNV im Organismus der Edelkrebse müssen sie als Virusreservoir angesehen werden. Da diese Tiere das IPNV bis zu 10 Wochen p.i. ins Wasser kontinuierlich ausscheiden, stellen sie eine bedeutende IPNV-Infektionsquelle dar.

Weiterhin wurde beobachtet, daß bei den mit IPNV-haltigem Wasser infizierten Edelkrebsen das IPN-Virus auch nach erfolgter Häutung in der Hämolymphe persistiert. Während der Häutung und kurz danach sind die Edelkrebse aufgrund ihres weichen, noch unverkalkten Exoskeletts eine begehrte Nahrungsquelle für Fische wie Aale, Rutten, Hechte, Aitel oder Forellen.

Da IPNV-Infektionen bei Fischen infolge der Aufnahme kontaminierten Futters bewiesen wurden (Ahne, 1983 a), wäre es auch denkbar, daß sich carnivore Fische durch den Verzehr IPNV-infizierter Edelkrebse mit dem IPN-Virus infizieren und somit selbst zum Virusträger werden. Die Kenntnis über derartige Infektketten ist für seuchenhygienische Maßnahmen von großer Bedeutung.

Von wesentlicher epizootiologischer Bedeutung ist die Tatsache, daß im Hälterungswasser IPNV-infizierter Edelkrebse gehaltene Forellenbrütlinge den Erreger aus dem Wasser aufnehmen.

Nach bisherigen Erkenntnissen wird das IPN-Virus vor allem über die Exkrete und Sexualprodukte infizierter Fische verbreitet (Wolf und Quimby, 1963; Ahne, 1983 b). Durch die virushaltigen Ausscheidungsprodukte erfolgt eine Kontamination des Wassers mit dem IPNV. In infizierten Beständen ließen sich im Hälterungswasser sogar Virustiter von bis zu 1×10^4 PFU/ml ermitteln (Ahne, 1983 a).

Untersuchungen von AHNE (1980, 1982, 1983 a) weisen auf die Stabilität des IPNV im Wasser sowie auf die Möglichkeit hin, daß empfängliche Fische mit IPNV-kontaminiertem Wasser infiziert werden.

JØRGENSEN (pers. Mitt.) gibt eine Mindestinfektionsdosis von 25 Viruspartikeln in einem Milliliter Wasser an, um Forellenbrütlinge erfolgreich mit dem IPNV zu infizieren.

Weiterhin ist es eine seuchenhygienisch bedeutende Tatsache, daß die mit dem Hälterungswasser IPNV-infizierter Edelkrebse behandelten Forelleneier bereits 12 Stunden p.i. IPNV-positiv waren. Offensichtlich genügen wenige Viruspartikel ($< 10 \text{ KID}_{50}/0,1 \text{ ml Wasser}$) im Wasser um ein Forellenei erfolgreich zu infizieren.

Die Kontaminationsmöglichkeit der Forelleneier mit IPNV-haltigem Wasser ist in der Literatur gut beschrieben (Wolf et.al., 1963; Bullock et.al., 1976). AHNE und NEGELE (1985) infizierten Forelleneier mit IPNV-haltigem Wasser ($7,5 \times 10^6 \text{ PFU/ml}$, 1 Stunde bei 10° C) und konnten bereits 6 Minuten p.i. das IPNV in der Eischale nachweisen.

Nach experimenteller IPNV-Infektion gelang es in den vorliegenden Untersuchungen ikosaederförmige, 60 - 65 nm große und unbehüllte Viruspartikel in den zytoplasmatischen Granula der Hämocyten und Phagozyten der Edelkrebse in verschiedenen Organen (Antennendrüsen, Kiemen, Hepatopankreas) nachzuweisen.

Das Virus glich in der Morphologie und in der Größe dem IPNV (Moss und Gravell, 1969). Die Identität der Viruspartikel mit dem IPNV beweisen die Ergebnisse der durchgeführten serologischen Untersuchungen.

Virale Infektionen beim Edelkrebs wurden in der Literatur bisher noch nicht beschrieben.

Bei Süßwassercrustaceen Daphnia magna und Simocephalus exspinosus fanden BERGOIN et.al. (1984) bzw. FEDERICI und HAZARD (1975) sowie FEDERICI (1980) Iridoviren, die sich jedoch aufgrund ihrer Form und Größe (136 - 154 nm) von dem IPNV unterscheiden.

Bei Simocephalus exspinosus konnte außerdem ein "cytoplasmatic polyhedrosis virus" ermittelt werden. Es wird den Reoviridae zugeordnet und bildet im Hepatopankreasepithel zytoplasmatische Einschlüsse (Federici und Hazard, 1975). Dieser Befund konnte während der elektronenmikroskopischen Untersuchungen der Gewebe der Edelkrebse nicht erhoben werden.

Bei der Krabbe Callinectes sapidus wurden in den Zellkernen der Hämocyten ein "Herpeslike-Virus" (Johnson, 1976), die Baculoviren A und B (Johnson, 1983; Bazin et.al., 1974) sowie im Zytoplasma ein "Reolike-Virus" (Johnson und Bodammer, 1975) beschrieben.

Ein Rhabdovirus (Enveloped Helical Virus; Johnson und Farley, 1980) konnte als reifes Viruspartikel extrazellulär im hämatopoetischen Gewebe der Krabbe Callinectes sapidus nachgewiesen werden.

Über ein weiteres Rhabdovirus berichtete BANG (1971) bei der Strandkrabbe Carcinus maenas. Es war in den zytoplasmatischen Vakuolen der granulären Hämozyten zu finden. Diese beschriebenen Viren unterscheiden sich aber alle durch ihre Größe und Form vom IPNV.

Die bisher in den Phagozyten von Callinectes sapidus nachgewiesenen Viren ("Herpeslike-Virus" und Baculoviren; Johnson, 1980) haben mit den in den Phagozyten des Edelkrebses ermittelten Partikeln ebenfalls keine Gemeinsamkeiten, da die Krabbenviren nur im Zellkern nachgewiesen wurden, Kerneinschlußkörper bildeten und ebenfalls eine vom IPNV unterschiedliche Größe und Form aufwiesen.

Die von FOSTER et.al. (1981) bei Garnelen (Penaeus aztecus) in infizierten Phagozyten (Herzgewebe) beschriebenen, noch nicht klassifizierten Viren sind mit einer Größe von ca. 23 nm deutlich kleiner als das IPN-Virus.

Dagegen haben diese Viruspartikel Ähnlichkeiten mit den ca. 20 nm großen, kristallin angeordneten und ikosaederförmigen Partikeln, die in den Bindegewebszellen der Kiemen eines verendeten Edelkrebses ermittelt wurden.

Aufgrund ihrer Größe und Form müssen diese auch mit den bei Crustaceen gefundenen Parvo- und Picornaviren verglichen werden.

Die bei Garnelen (Penaeus sp.) vorkommenden Parvoviren vermehrten sich jedoch im Zellkern unter Bildung von Kerneinschlußkörpern (Lightner und Redman, 1985):

Die in der Literatur bei Portunium conformis und Hemigrapsus oregonensis (Kuris et.al., 1979), Callinectes sapidus (Johnson, 1978) sowie Macropipus depurator (Bonami, 1976) beschriebenen Picornaviren (25 - 31 nm) sind größer als die beim Edelkrebs ermittelten Partikel.

Auch ein Vergleich der beim Edelkrebs ermittelten 20 nm Partikel mit den von LIGHTNER (1983) beschriebenen IHNV-Virus (Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus) bietet sich an. Das IHNV verursacht bei Zuchtgarnelen (Penaeus sp.) hohe Mortalitätsraten.

Unterschieden werden drei Virustypen: Typ 1 kommt am häufigsten vor, ist ikosaederförmig, 27 nm groß und bildet im Zytoplasma Aggregate; Typ 2 mißt 17 nm, kommt seltener vor und ordnet sich in zytoplasmatischen Einschlüssen kristallin an, Typ 3 ist 20 nm groß und kann nur im Kern gefunden werden.

Die beim Edelkrebs erstmals in der vorliegenden Arbeit beschriebenen 20 nm Partikel gleichen am ehesten den von FOSTER et.al. (1981) als "Picornaviren" bezeichneten Partikeln; eine endgültige Klassifizierung steht allerdings noch aus.

Aufgrund der vorliegenden Befunde müssen die neuerdings in der Bundesrepublik Deutschland angestrebten Besatzmaßnahmen mit Edelkrebsen hinsichtlich des Tierseuchengesetzes und der Fischseuchen-Schutzverordnung neu überdacht werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die vorliegende Arbeit befaßt sich mit dem Edelkrebs (Astacus astacus L.) als IPNV-Vektor.

Mit einem als IPNV-Subtyp Sp identifizierten Laborstamm wurden Edelkrebse intraperitoneal, über das Wasser, über das Futter (Forellenbrut) und über das Hälterungswasser IPNV-infizierter Forellenbrut erfolgreich infiziert.

Der Erreger konnte aus der Hämolymphe und/oder aus verschiedenen Organen der Edelkrebse mit Titern von $10^1 - 10^{7,8}$ KID₅₀/0,1 ml bzw. 0,1 g reisoliert werden.

Das IPNV persistierte bis zu 42 Wochen p.i. in der Hämolymphe der Edelkrebse. Es war auch noch nach der Häutung (16. Wo. p.i.) der Edelkrebse in der Hämolymphe nachweisbar.

Die IPNV-infizierten Edelkrebse schieden das Virus bis zu 10 Wochen p.i. ins Hälterungswasser kontinuierlich aus (Titer: $10^1 - 10^{2,5}$ KID₅₀/0,1 ml).

Ins Hälterungswasser IPNV-infizierter Edelkrebse verbrachte Forelleneier und -brütlinge erwiesen sich nach 12 Stunden bzw. drei Tagen als IPNV-positiv.

Bei den IPNV-infizierten Edelkrebsen konnten die IPN-Viren elektronenmikroskopisch in den zytoplasmatischen Granula der Hämocyten und Phagozyten der Antennendrüsen, der Kiemen und des Hepatopankreas nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit beweisen, daß der Edelkrebs als IPNV-Vektor anzusehen ist.

Einen Nebenfund stellen die in den Kiemenbindegewebszellen des Edelkrebses erstmals ermittelten 20 nm große, den Picornaviren ähnlichen Viruspartikel dar, deren Bedeutung für den Edelkrebs noch ungeklärt ist.

VI. SUMMARY

The noble crayfish (Astacus astacus L.) as vector of the virus of infectious pancreatic necrosis (IPNV).

This work deals with the noble crayfish and its role in the IPN epizootiology.

The crayfish has been infected experimentally with IPNV subtype Sp intraperitoneally, via water, via food (rainbow trout fry) and by keeping together with IPNV-infected rainbow trout fry.

The IPNV was detected in the haemolymph and the organs of the infected crayfish (titer: $10^1 - 10^{7.8}$ TCID₅₀/0,1 ml or 0,1 g).

The IPNV persisted in the haemolymph up to 42 weeks. Even after molting (16 weeks p.i.) of the crayfish the virus was still present in the haemolymph.

The IPNV-infected crayfish excreted the virus into the water continuously (titer: $10^1 - 10^{2.5}$ TCID₅₀/0,1 ml) up to 10 weeks.

Rainbow trout fry and eggs were infected with IPNV by immersion the fish and eggs into water contaminated by IPNV-infected crayfish.

The IPNV could be demonstrated with the electronmicroscope in the cytoplasmatic granules of the haemocytes in the antennal glands, the gills and the hepatopancreas of the infected crayfish.

The results of this work identify the noble crayfish as vector of IPNV.

Picornavirus-like 20 nm particles were detected in the connective tissue of the crayfish gills for the first time. Their significance for the noble crayfish is unknown.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

- AGIUS, C., A. RICHARDSON and W. WALKER (1983): Further observation on the co-cultivation method for isolating infectious pancreatic necrosis virus from asymptomatic carrier rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson. J. Fish Dis. 6, 477-480.
- AGIUS, C., H. MANGUNWIRYO, R.H. JOHNSON and D.A. SMALL (1982): A more sensitive technique for isolating infectious pancreatic necrosis virus from asymptomatic carrier rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson. J. Fish Dis. 5, 285-292.
- AGNIEL, L. D., (1975): An assessment of passive transfer of immunity to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in trout.
M. S. Thesis, The American University, Washington D. C.
- AHNE, W. (1979): Fish cell culture: A fibroblastic line (PG) from ovaries of juvenile pike (Esox lucius). In vitro 15, 839-840.
- AHNE, W. (1980): Vorkommen des Virus der Infektiösen Pankreasnekrose der Forellen (IPN) bei verschiedenen Fischarten.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 93, 14-16.
- AHNE, W. (1981): Serological techniques currently used in fish virology.
International Symposium on Fish Biologics: Serodiagnostics and Vaccines, Leetown, W.Va., U.S.A., 1981, Develop. biol. Standard. 49, 3-27
S. Krager, Basel
- AHNE, W. (1982): Vergleichende Untersuchungen über die Stabilität von vier fischpathogenen Viren.
Zbl. Vet. Med. B 27, 457-476.
- AHNE, W. (1983 a): Zur Verbreitung von Fischviren durch belebte und unbelebte Vektoren.
Fortschr. Vet. Med. 37, 128-131.
- AHNE, W. (1983 b): Presence of infectious pancreatic necrosis virus in the seminal fluid of rainbow trout (Salmo gairdneri Rich.).
J. Fish Dis. 6, 377.
- AHNE, W. (1984): Aktuelle Forschungsergebnisse über das Vorkommen, die Verbreitung und die Stabilität des Virus der infektiösen Pankreasnekrose der Forellen (IPN).
Fischer u. Teichwirt 8, 228-229.

- AHNE, W. (1985): Virusinfektionen bei Fischen: Ätiologie, Diagnose und Bekämpfung.
Zbl. Vet. Med. B 32, 237-264.
- AHNE, W. (1986): Grundriß der Zoologie für Tiermediziner.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- AHNE, W., and R. D. NEGELE (1985): Studies on the transmission of IPN virus via eyed eggs and sexual products of salmonid fishes. In: Fish and Shellfish pathology (Ed. A.E. ELLIS), pp. 261-269. Academic Press, London.
- AHNE, W., and I. THOMSEN (1986): Infectious Pancreatic Necrosis: Detection of virus and antibodies in rainbow trout IPNV-carrier (Salmo gairdneri).
J. Vet. Med. B 33, 552-554.
- AHNE, W., H. DELVENTHAL, G. KOHLMAYER and I. THOMSEN (1986): Nachweis von IPNV-Antikörpern in Forellensereren mit der indirekten Immunofluoreszenztechnik.
Zbl. Vet. Med. B 32, 145-148.
- ANGIOLELLI, R. F. and G. F. RIO (1971): Infectious pancreatic necrosis virus induced lesions in Swiss albino mice: Electron microscopy.
Am. J. Vet. Res. 33, 1513-1520.
- ARRIGNON (1981): L'écrevisse et son élevage. Edition gauthier, Paris.
- BANG, F. B. (1971): Transmissible disease, probably viral in origin, affecting the amoebocytes of the European shore crab, Carcinus maenas.
Infect. Immun. 3, 617-623.
- BANG, F. B. (1983): Crustacean disease responses.
In: The biology of Crustacea (Ed. A. J. PROVENZANO), 6, 114-153. Academic Press, New York.
- BAUCHAU, A. G. (1981): Crustaceans.
In: Invertebrate blood cells (Eds. N. A. RATCLIFFE, and A. F. ROWLEY), pp. 385-420. Academic Press, London.
- BAZIN, F., P. MONSARRAT, P. BONAMI, G. CROIZIER, G. MEYNADIER, J.M. QUIOT et C. VAGO (1974): Particules virales de type baculovirus observées chez le crab Carcinus maenas.
Rev. Trav. Inst. Pech. marit. 38, 205-208.
- BERGOIN, M., E. MIALHE, J.- M. QUIOT et P. van ROSIEREN (1984): Infection a chloriridovirus (Iridoviridae) dans les populations du crustacé planctonique Daphnia magna (Straus) (Cladocera) d'étangs saumâtres.
C. R. Acad. Sci., Paris, 298, 139-142.

- BONAMI, J.R. (1976): Viruses from crustaceans and annelids: Our state of knowledge.
Proc. int. Colloq. Invertebr. Pathol. 1, 20-23.
- BONAMI, J.R., and C. VAGO (1971): A virus of a new type pathogenic to Crustacea.
Experientia 27, 1363-1364.
- BOVO, G., G. CESCHIA, G. GIORGETTI, and M. VANELLI (1984): Isolation of an IPN-like virus from adult Kuruma shrimps (Penaeus japonicus).
Bull. Eur. Ass. Fish Pathol. 4, 21.
- BROCK, J. A., K. NAKAGAWA, H. van CAMPEN, T. HAYASHI and S. TERUTA (1986): A record of Baculovirus penaei from Penaeus marginatus Randall in Hawaii.
J. Fish Dis. 9, 353-355.
- BULLOCK, G. L., R. R. RUCKER, D. AMEND, K. WOLF and M. STUCKEY (1976): Infectious pancreatic necrosis: transmission with iodinetreated and nontreated eggs of brook trout (Salvelinus fontinalis).
J. Fish Res. Board. Can. 33, 1197-1198.
- CHASSARD-BOUCHAUD, C., M. HUBERT et J.- R. BONAMI (1976): Particules d'allure virale associées à l'organe Y du crabe Carcinus maenas (Crustacé Decapode).
C. R. Acad. Sci., Paris, 282, 1565-1566.
- CLEM, W. L., K. CLEM, and L. McCUMBER (1984): Recognition of xenogenic proteins by the blue crab: Dissociation of the clearance and degradation reactions and lack of involvement of circulating hemocytes and humoral factors.
Devel. Comp. Immunol. 8, 31-40.
- COLE, A., and T. J. MORRIS (1980): A new iridovirus of two species of terrestrial isopods, Armadillidium vulgare and Porcellio scaber.
Intervirology 14, 21-30.
- COUCH, J. A. (1974): Free and occluded virus, similar to Baculovirus, in hepatopancreas of pink shrimp.
Nature 247, 229-231.
- DIGIROLAMO, R., L. WICZYNSKI, M. DALEY, and F. MIRANDA (1972 a): Preliminary observations on the uptake of poliovirus by West Coast shore crabs.
Appl. Microbiol. 23, 170-171.
- DIGIROLAMO, R., L. WICZYNSKI, M. DALEY, F. MIRANDA and C. VICHWEGER (1972 b): Uptake of bacteriophage and their subsequent survival in edible West Coast shore crabs.
Appl. Microbiol. 23, 1073-1076.

- DOBOS, P., B. J. HILL, R. HALLET, D. KELLS, H. BECHT, and D. TENINGES (1979): Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bisegmented doubled stranded RNA genomes.
J. Virol. 32, 593-605.
- DORSON, M. (1977): Vaccination trials of rainbow trout fry against infectious pancreatic necrosis.
Bull. Off. int. Epiz. 87, 405-406.
- DORSON, M. (1984): Applied immunology of fish.
In: Proceedings Symposium on Fish Vaccination, O.I.E. Paris pp. 39-75.
- DORSON, M. et P. de KINKELIN (1974): Virus de la Nécrose pancréatique infectieuse des salmonides: existence dans le sérum de truites indemnes d'une molécule 6S neutralisant spécifiquement le virus.
C. R. Acad. Sci., Paris, 278, 785-788.
- DORSON, M., and C. TORCHY (1981): The influence of fish age and water temperature on the mortalities of rainbow trout (Salmo gairdneri Rich.) caused by an European strain of infectious pancreatic necrosis virus.
J. Fish Dis. 4, 213-221.
- DORSON, M., P. de KINKELIN, and C. TORCHY (1975): Virus de la Nécrose pancréatique infectieuse: Acquisition de la sensibilité au facteur neutralisant du sérum de truite après passages successifs en culture cellulaire.
C. R. Acad. Sc., Paris, 281, 1435-1438.
- ELLIS, A. E. (1981): Stress and modulation of the immune response in fish. In: Stress and Fish (Ed. A. D. PICKERING), pp. 147-169. Academic Press, London.
- FEDERICI, B. A., and E. I. HAZARD (1975): Iridovirus and cytoplasmatic polyhedrosis virus in freshwater daphnid Simocephalus exspinosus.
Nature 254, 327-328.
- FEDERICI, B. A. (1980): Isolation of an iridovirus from two terrestrial isopods, the pillbug Armadillidium vulgare, and the sowbug Porcellio dilatatus.
J. Invertebr. Pathol. 36, 373-381.
- FOSTER, C. A., C. A. FARLEY, and P. T. JOHNSON (1981): Viruslike particles in cardiac cells of the brown shrimp, Penaeus aztecus Ives.
J. submicrosc. Cytol. 13, 723-726.
- FRANTSI, C., and M. SAVAN (1971 a): Infectious pancreatic necrosis virus: comparative frequencies of isolation from feces and organs of brook trout (Salvelinus fontinalis)
J. Fish Res. Board. Can. 28, 1064-1065.

- FRANTSI, C., and M. SAVAN (1971 b): Infectious pancreatic necrosis virus - temperature and age factors in mortality.
J. Wildlife Dis. 7, 249-255.
- HEJKAL, T. W and C. P. GERBA (1983): Uptake and survival of enteric viruses in the blue crab Callinectes sapidus.
Appl. Environ. Microbiol. 41, 207-211.
- HILL, B. J. (1982): Infectious pancreatic necrosis virus and its virulence. In: Spec. Publ. Soc. Gen. Microbiol. Academic Press, pp. 91-114.
- HILL, B. J., and P. F. DIXON (1977): Studies on IPN virulence and immunization.
Bull. Off. Int. Epiz. 87, 425-427.
- HILL, B. J., M. DORSON, and P. F. DIXON (1980): Studies on immunization of trout against IPN.
In: Fish Disease (Ed. W. AHNE), pp. 29-36. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- HOFMANN, J. (1979): Die Flußkrebse. 2. Auflage.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
- JAHROMI, S. S. (1977): Occurrence of rhabdovirus-like particles in the blue crab, Callinectes sapidus.
J. gen. Virol. 36, 485-494.
- JØRGENSEN, P. E. V. (1973): The nature and biological activity of IPN virus neutralizing antibodies in normal and immunized rainbow trout (Salmo gairdneri).
Arch. Ges. Virusforsch. 42, 9-20.
- JØRGENSEN, P. E. V. (1974): A study of viral diseases in Danish rainbow trout, their diagnosis and control.
A/s Carl. F. Mortensen, Bulowsvej 5C, 1870 København 5.
- JOHANSSON, M. W., and K. SÖDERHÄLL (1985): Exocytosis of the prophenoloxidase activating system from crayfish haemocytes.
J. Comp. Physiol. B 156, 175-181.
- JOHNSON, P. T. (1976 a): A herpeslike virus from the blue crab, Callinectes sapidus.
J. Invertebr. Pathol. 27, 419-420.
- JOHNSON, P. T. (1976 b): A baculovirus from the blue crab Callinectes sapidus.
Proc. int. Colloq. Invertebr. Pathol. 1, 24.
- JOHNSON, P. T. (1978): Viral diseases of the blue crab, Callinectes sapidus.
Mar. Fish. Rev. 40, 13-15.

- JOHNSON, P. T. (1980): Histology of the blue crab, Callinectes sapidus. A model for the Decapoda. Praeger Publishers, New York.
- JOHNSON, P. T. (1983): Diseases caused by virusses, rickettsiae, bacteria, and fungi. In: The biology of Crustacea. (Ed. A. J. PROVENZANO), 6, 1-78. Academic Press, New York.
- JOHNSON, P. T. (1984): Viral diseases of marine invertebrates. Helgol. Meeresunters. 37, 65-98.
- JOHNSON, P. T., and J. E. BODAMMER (1975): A disease of the blue crab, Callinectes sapidus, of possible viral etiology. J. Invertebr. Pathol. 26, 141-143.
- JOHNSON, P. T., and C. A. FARLEY (1980): A new enveloped helical virus from the blue crab, Callinectes sapidus. J. Invertebr. Pathol. 35, 90-92.
- KÄRBER, G. (1931): Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 162, 480.
- KINKELIN de, P., H. J. BERNARD, and A. M. HATTENBERGER-BAUDOUY (1984): Immunization against viral diseases occurring in cold water. In: Proceedings Symposium on Fish Vaccination, O.I.E. Paris, pp. 167-197.
- KURIS, A. M., G. J. Jr. POINAR, R. HESS, and T. J. MORRIS (1979): Virus particles in an internal parasite, Portunus conformis (Crustacea: Isopoda: Entoniscidae), and its marine crab host, Hemigrapsus oregonensis. J. Invertebr. Pathol. 34, 26-31.
- LIGHTNER, D. V., and R. M. REDMAN (1981): A baculovirus caused disease of the penaeid shrimp, Penaeus monodon. J. Invertebr. Pathol. 38, 299-302.
- LIGHTNER, D. V., and R. M. REDMAN (1985): A parvo-like virus disease of penaeid shrimp. J. Invertebr. Pathol. 45, 47-53.
- LIGHTNER, D. V., R. M. REDMAN, and T. A. BELL (1983): Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis (IHHN), a newly recognized virus disease of penaeid shrimp. J. Invertebr. Pathol. 42, 62-70.
- LUFT, J. H. (1961): Improvements in epoxy resin embedding materials. J. Biophys. Biochem. Cytol. 9, 409-414.

- McCUMBER, L., and L. W. CLEM (1977): Recognition of viruses and xenogenic proteins by the blue crab, Callinectes sapidus. I. Clearance and organ concentration. *Devel. Comp. Immunol.* 1, 5-14.
- McCUMBER, L., E. HOFFMANN, and L. W. CLEM (1979): Recognition of viruses and xenogenic proteins by the blue crab, Callinectes sapidus: A humoral receptor for T2 bacteriophage. *J. Invertebr. Pathol.* 33, 1-9.
- MORGAN, J. F., H. J. MORTON, and R. C. PARKER (1950): Nutrition of animal cells in tissue culture. I. Initial studies on a synthetic medium. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 73, 1.
- MOSS, L. H., and M. GRAVELL (1969): Ultrastructure and sequential development of infectious pancreatic necrosis virus. *J. Virol.* 3, 52-58.
- MÜLLER, G. (1978): Studie zur Neueinbürgerung des gegen die Krebspest resistenten Signalkrebsses (Pacifastacus leniusculus Dana). Diss. der Landwirtschaftlichen Fakultät der Universität Göttingen.
- MUNRO, A. L. S., and I. B. DUNCAN, (1977): Current problems in the study of the biology of infectious pancreatic necrosis virus and the management of the disease it causes in cultivated salmonid fish. In: *Aquatic Microbiology* (Eds. F. A. SKINNER, and J. M. SHEWAN), pp. 325-337. Academic Press, London.
- NYHLEN, L., and T. UNESTAM (1980): Wound reactions and Aphanomyces astaci growth in crayfish cuticle. *J. Invertebr. Pathol.* 36, 187-197.
- PAPPALARDO, R., and J.-R. BONAMI (1979): Infection des Crustacés marins due à un virus de type nouveau apparenté aux Baculovirus. *C. R. Acad. Sci., Paris*, 288, 535-537.
- PAPPALARDO, R., J. MARI, and J.-R. BONAMI (1986): t (Tau)-virus infection of Carcinus mediterraneus: Histology, cytopathology, and experimental transmission of the disease. *J. Invertebr. Pathol.* 47, 361-368.
- PAYEN, G. G., and J.-R. BONAMI (1979): Mise en évidence de particules d'allure virale associées aux noyaux des cellules mesodermiques de la zone germinative testiculaire du crabe Rhithropanopeus harrisii (Gould) (Brachyoure, Xanthide). *Rev. Trav. Inst. Pech. marit.* 43, 361-365.

- PERSSON, M., and K. SÖDERHÄLL (1983): Pacifastacus le-
nuisculus Dana and its resistance to the parasitic
fungus Aphanomyces astaci Schik.
In: Proceedings from the fifth International Symposium
on freshwater crayfish (Ed. C.R. GOLDMAN), pp. 292-298.
Avi. Publishing Company, Westport, Conn., USA.
- PETERSON, D. R., and R. F. LOIZZI (1973): Regional cyto-
logy and cytochemistry of the crayfish kidney tubule.
J. Morphol. 141, 133-145.
- RENNER, M. (1984): Kükenthal's Leitfaden für das Zoologi-
sche Praktikum. 19. Auflage. G. Fischer Verlag,
Stuttgart
- RENO, P. W., S. DARLEY, and M. SAVAN (1978): Infectious
pancreatic necrosis: experimental induction of carrier
state in trout.
J. Fish Res. Board. Can. 64, 1451-1456.
- REYNOLDS, E. S. (1963): The use of lead citrate at high pH
as an electron opaque stain in electron microscopy.
J. Cell Biol. 17, 208-212.
- ROLLE, M. und A. MAYR (1984): Mikrobiologie, Infektions
und Seuchenlehre. 5. Auflage, Gustav Enke Verlag
Stuttgart.
- SANO, T., NISHIMURA, T., OGUMA, K., MOMOYAMA, K. and
TAKENO, N. (1981): Baculovirus infection of Kuruma
shrimp Penaeus japonicus in Japan.
Fish Pathol. 15, 186-191.
- SCHÄPERCLAUS, W. (1979): Fischkrankheiten. 4. Auflage Aka-
demie Verlag, Berlin.
- SLOAN, B., C. YOCUM, and L. W. CLEM (1975): Recognition of
self from nonself in crustaceans.
Nature 258, 521-523.
- SMITH, V. J., and K. SÖDERHÄLL (1983 a): B-1,3-glucan
activation of crustacean haemocytes in vitro and in
vivo.
Biol. Bull. 164, 299-314.
- SMITH, V. J., and K. SÖDERHÄLL (1983 b): Induction of de-
granulation and lysis of haemocytes of the freshwater
crayfish Astacus astacus by components of the prophe-
noloxidase activating system in vitro.
Cell Tissue Res. 233, 295-303.
- SÖDERHÄLL, K. (1981): Fungal cell wall B-1,3-glucans in-
duce clotting and phenoloxidase attachment to foreign
surfaces of crayfish haemocyte lysate.
Dev. Comp. Immunol. 5, 565-573.

- SÖDERHÄLL, K. (1983): B-1,3-glucans enhancement of protease activity in crayfish haemocyte lysate.
Comp. Biochem. Physiol. B 74, 221-224.
- SÖDERHÄLL, K., and R. AJAXON (1982): Effect of quinones and melanins on mycelial growth of Aphanomyces astaci spp. and extracellular protease of Aphanomyces astaci a parasitic on crayfish.
J. Invertebr. Pathol. 39, 105-109.
- SÖDERHÄLL, K., and L. HÄLL (1984): Lipopolysaccharide - induced activation of prophenoloxidase activating system in crayfish haemocyte lysate.
Biochim. Biophys. Acta 797, 99-104.
- SÖDERHÄLL, K., and V. J. SMITH (1983): Separation of the haemocyte populations of Carcinus maenas and other marine decapods and prophenoloxidase distribution.
Dev. Comp. Immunol. 7, 229-239.
- SÖDERHÄLL, K., and V. J. SMITH (1986): The prophenoloxidase activating system: the biochemistry of its activation and the role in arthropod cellular immunity, with special reference to crustaceans.
In: Immunity in Invertebrates, Cells, Molecules, and Defence Reactions (Ed. M. BREHELIN), pp. 208-223.
Life Sciences. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York.
- SÖDERHÄLL, K., and T. UNESTAM (1979): Activation of crayfish serum prophenoloxidase: The specificity of cell wall glucan activation and activation by purified fungal glycoproteins.
Can. J. Microbiol. 25, 404-416.
- SONSTEGARD, R. A. and L. A. McDERMOTT (1972): Epidemiological model for passive transfer of IPNV by homeotherms.
Nature 237, 104-105.
- SPARKS, A. K., and J. F. MORADO (1986): A herpes-like virus in the blue king crab Paralithodes platypus.
Dis. aquat. Org. 1, 115-122.
- STANG-VOSS, C. (1971): Zur Ultrastruktur der Blutzellen wirbelloser Tiere. V. Über die Hämocyten von Astacus astacus L. (Crustacea).
Z. Zellforsch. 122, 68-75.
- SWANSON, R. N. (1981): Use of the indirect fluorescent antibody test to study the pathogenesis of infectious pancreatic necrosis virus infection in trout.
Develop. Biol. Standard 42, 71-77.

- UNESTAM, T. (1973): Significance of diseases on freshwater crayfish.
In: Freshwater crayfish. Papers from the first International Symposium on freshwater crayfish, Austria 1972. (Ed. S. ABRAHAMSSON), pp. 135-150. Lund.
- UNESTAM, T., and K. SÖDERHÄLL (1977): Soluble fragments from fungal cell walls elicit defence reactions in crayfish.
Nature 167, 45-46.
- VAGO, C. (1966): A virus disease in Crustacea.
Nature 209, 1290.
- VEY, A., K. SÖDERHÄLL, and R. AJAXON (1983): Susceptibility of Orconectes limosus Raff. to the crayfish plague Aphanomyces astaci Schik.
In: Proceedings from the fifth International Symposium on freshwater crayfish (Ed. C. R. GOLDMAN), pp. 284-291. Avi. Publishing Company, Westport, Conn., USA.
- WESTMAN, K., and M. PURSIAINEN (1982): European Inland Fisheries Advisory Commission (EIFAC), 12 th Session, Budapest, Hungary, 1982: Status of crayfish stocks and fisheries in Europe.
- WIZIGMANN, G., W. AHNE und H.-J. SCHLOTFELDT (1983): Laboratoriumsdiagnose von Virusinfektionen bei Süßwasserfischen unter besonderer Berücksichtigung der viralen hämorrhagischen Septikämie (VHS), der infektiösen Pankreasnekrose (IPN) und der Frühlingsvirämie (SVCV).
Tierärztl. Umschau 38, 44-49; 129-131 und 197-200.
- WOLF, K., and M. C. QUIMBY (1962): Established eurythermic line of fish cells in vitro.
Science 151, 1004-1005.
- WOLF, K., and M. C. QUIMBY (1967): Infectious pancreatic necrosis: Its diagnosis, identification, detection and control.
Riv. It. Piscic. ittiopat. 2, 76-80.
- WOLF, K. and M. C. QUIMBY (1969): Infectious pancreatic necrosis: Clinical and immune response of adult trout to inoculation with live virus.
J. Fish Res. Board. Can. 26, 2511-2516.
- WOLF, K., and M. C. QUIMBY (1971): Salmonid Viruses: Infectious pancreatic necrosis virus. Morphology, pathology and serology of the first European isolations.
Arch. Virol. 34, 144-156.
- WOLF, K., M. C. QUIMBY, and A. D. BRADFORD (1963): Egg-associated transmission of IPN virus and trouts.
Virology 21, 317-321.

- WOLF, K., S. F. SNIESZKO, C. E. DUNBAR, and E. PYLE (1960): Virus nature of infectious pancreatic necrosis in trout.
Proc. Soc. Exp. Biol. 104, 105-108.
- YAMAMOTO, T. (1975 a): Frequency of detection and survival of infectious pancreatic necrosis virus in a carrier population of brook trout (Salvelinus fontinalis) in a lake.
J. Fish Res. Board. Can. 32, 568-570.
- YAMAMOTO, T. (1975 b): Infectious pancreatic necrosis (IPN) virus carriers and antibody production in a population of rainbow trout (Salmo gairdneri).
Can. J. Microbiol. 21, 1343-1347.
- YAMAMOTO, T., and KILISTOFF (1979): Infectious pancreatic necrosis virus: quantification of carriers in lake populations during a six year period.
J. Fish Res. Board. Can. 36, 562-567.
- YUDIN, A. J. and CLARK, W. H., Jr. (1978 a): Two viruslike particles found in the ecdysial gland of the blue crab, Callinectes sapidus.
J. Invertebr. Pathol. 32, 219-221.
- YUDIN, A. J. and CLARK, W. H., Jr. (1978 b): A discription of rhabdovirus-like particles in the mandibular gland of the blue crab, Callinectes sapidus.
J. Invertebr. Pathol. 33, 133-147.

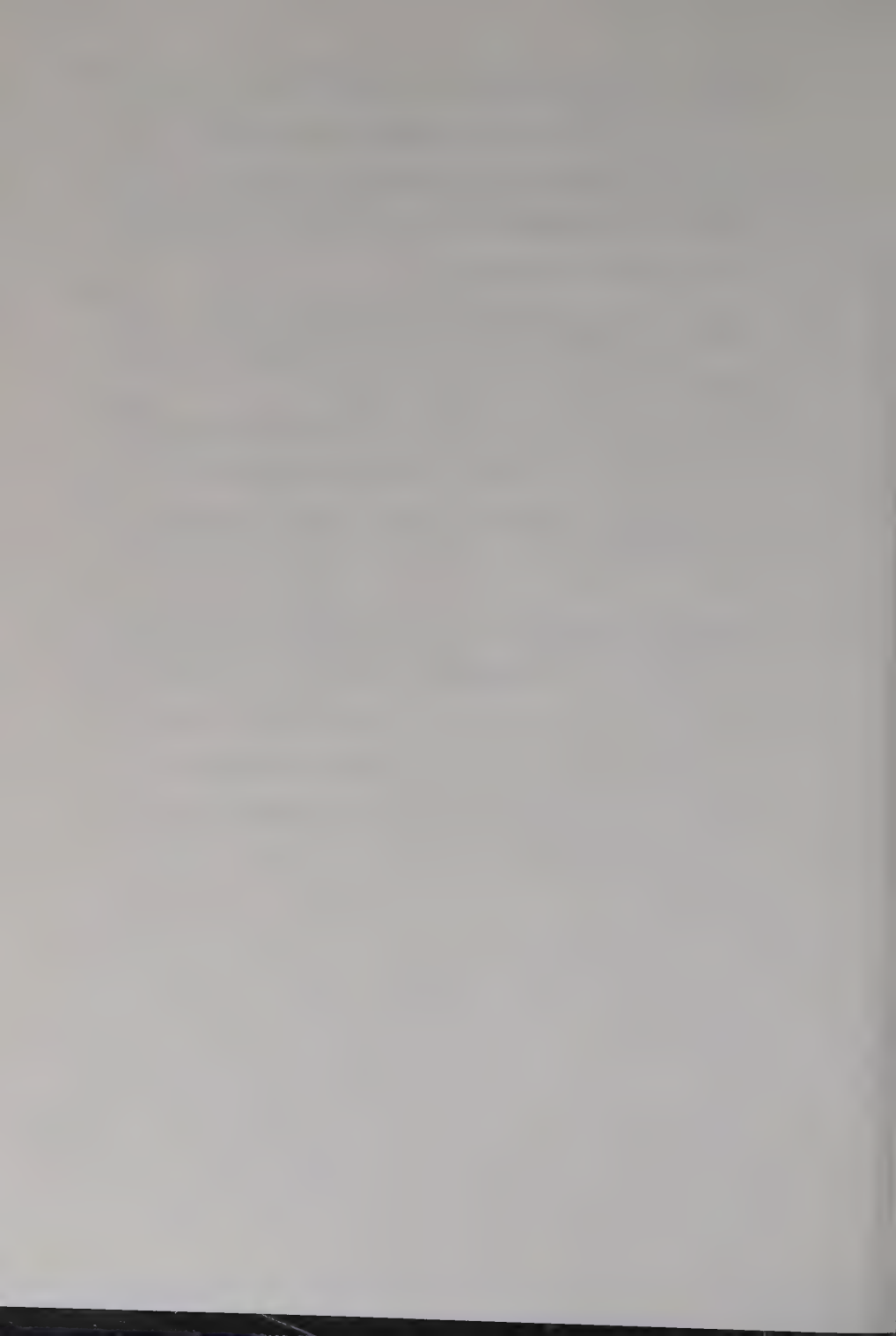
Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. habil. W. Ahne für die Überlassung des Themas, die wissenschaftliche Anleitung sowie die vorbildliche Betreuung.

Frau I. Thomsen danke ich für die jederzeit gewährte Hilfe und für die gute Zusammenarbeit.

Allen Mitarbeitern des Institutes für Zoologie und Hydrobiologie, die zum Zustandekommen dieser Arbeit beigetragen haben, möchte ich herzlich danken.

Herrn W. Boos danke ich für die Überlassung des Textverarbeitungssystems.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden freundlicherweise vom Bayerischen Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen finanziell unterstützt.



Lebenslauf

Name: Maria Elisabeth Halder
geb.: 24. Juli 1958 in Saulgau
Eltern: Felix Halder
Rosalie Halder geb. Steuer

Schule:

1965 - 1968 Besuch der Grundschule in Hochberg
1968 - 1977 Besuch des Gymnasiums in Saulgau
4. Mai 1977 Abitur

Studium:

1977 - 1983 Studium der Tiermedizin an der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
11. August 1983 Staatsexamen
Mai 1984 Beginn der vorliegenden Dissertation
24. August 1984 Approbation als Tierärztin
seit
Oktober 1985 als wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Zoologie und Hydrobiologie der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München tätig

